ANNALES DE ZOOLOGIE ÉCOLOGIE ANIMALE

VOLUME 1 1969 TRIMESTRIEL NUMÉRO 3

Chaire d'Agriculture
GRIGNON

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

AZEA1.3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e^. Tél. : INV. 41-09.

Directeur général : J. BUSTARRET

Inspecteurs généraux : A. CAUDERON, G. DROUINEAU, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. BUSTARRET

Annales agronomiques.

— M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie.
— S. HÉNIN, Chef du Département d'Agronomie.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

— R. MAYER, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes.

Annales de Phytopathologie.

— H. DARPOUX, Chef du Département de Pathologie végétale.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

— E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie.

Annales de Zootechnie.

— R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
— A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
— A. RÉRAT, Directeur de la Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs, C.N.R.Z.

Annales de Technologie agricole.

— M. FLANZY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux.
— G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

— A. FRANÇOIS, Chef du Département de Recherches de Nutrition.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.

Annales de Physiologie végétale.

— Y. COÏC, Chef du Département de Physiologie végétale.

Annales des Sciences forestières.

— P. BOUVAREL, Directeur de la Station d'Amélioration des Arbres forestiers, C. N. R. F.
— J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54 - Nancy.
— J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

— J. POLY, Chef du Département de Génétique animale.

Recherches d'Économie et de Sociologie rurales.

— D. BERGMANN, Chef du Département d'Économie et de Sociologie rurales.

Recherches vétérinaires.

— P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Recherches d'Hydrobiologie continentale.

— R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.
— R. VIBERT, Directeur de la Station d'Hydrobiologie continentale, 64 - Biarritz.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

Service des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78 - VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

COLLOQUE SUR LES MANIFESTATIONS INFLAMMATOIRES ET TUMORALES CHEZ LES INVERTEBRES

Organisé par C. VAGO et O. FLANDRE

Le développement particulièrement rapide de la pathologie des invertébrés au cours de ces dernières années, a déjà permis d'aborder l'étude de plusieurs problèmes de pathologie de l'homme et des animaux à la base de la pathologie comparée, en utilisant les avantages qu'offrent les divers invertébrés sur le plan expérimental.

Par contre, ce n'est que depuis très peu de temps que le problème des tumeurs et des réactions inflammatoires a été envisagé selon les principes de la pathologie comparée, avec inclusion du secteur des invertébrés.

L'intérêt d'une telle extension s'étant révélé considérable, une confrontation des éléments acquis et des possibilités d'études comparées, a eu lieu au cours d'un premier colloque. Les communications et les discussions ont été orientées, d'une part vers l'étude des réactions inflammatoires, d'autre part vers la formation et la structure des tumeurs et enfin vers les relations entre ces deux phénomènes pathologiques qui sont souvent étroitement liés chez les invertébrés.

Les travaux de ce Colloque pourraient constituer le point de départ de recherches organisées d'une façon de plus en plus précise dans le domaine de l'oncologie comparée.

Octobre 1969

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

VIENT DE PARAITRE :

Publié en supplément aux Annales de Zoologie - Ecologie animale :

COLLOQUE SUR LES MANIFESTATIONS INFLAMMATOIRES ET TUMORALES CHEZ LES INVERTEBRES

organisé par C. VAGO et O. FLANDRE

Ce numéro hors série des Annales de Zoologie-Ecologie animale (136 p.), n'est pas compris dans le service normal des Annales. Son prix est de 40,00 F

BON DE COMMANDE
à adresser à :

Service des Publications I.N.R.A.
Route de Saint-Cyr
78-VERSAILLES *

Veuillez me faire parvenir .... exemplaire(s) du numéro hors série des Annales de Zoologie-Ecologie animale : Colloque sur les manifestations inflammatoires et tumorales chez les Invertébrés, au prix de 40,00 F. franco, que je règle :
- par virement au compte courant postal Régisseur des Publications, Paris 9064-43
- par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications I.N.R.A.

Nom :

Adresse :

Date : Signature :

* A Paris : Bureau de Vente, 11, rue Jean Nicot (7e)
(Les commandes peuvent également être transmises par l'intermédiaire des Libraires).

ANNALES DE ZOOLOGIE-ECOLOGIE ANIMALE

VOL. 1 N°. 3 1969

Nom de l'emprunteur	Emprunté le	remis le

ANNALES
DE
ZOOLOGIE
ÉCOLOGIE ANIMALE

VOLUME 1 1969 NUMÉRO 3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, Paris-7e

Ann. Zool. Ecol. anim., 1969, **1** (3), 211-244.

OBSERVATIONS FAUNISTIQUES ET BIOLOGIQUES SUR QUELQUES *PSEUDOCOCCIDAE* (*HOMOPTERA, COCCOIDEA*) VIVANT DANS LE MIDI DE LA FRANCE

A. PANIS

Station de Recherches de Lutte biologique et de Zoologie,
Centre de Recherches d'Antibes
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

L'inventaire des *Pseudococcidae* vivant sur les plantes cultivées en France a été commencé. Les caractères morphologiques, biologiques et écologiques ont été étudiés pour *Pseudococcus adonidum*, *Pseudococcus obscurus* et *Planococcus citri*, de façon à préciser leur position biosystématique et leur spécificité alimentaire.

INTRODUCTION

Entre 1925 et 1952, BALACHOWSKY et GOUX ont publié de nombreuses observations sur les Cochenilles farineuses ou Pseudococcines existant en France. Ces travaux à caractère essentiellement faunistique ont prouvé que diverses espèces susceptibles d'être nuisibles en plein air ou en serre avaient été accidentellement introduites dans nos régions et constituaient un danger permanent pour l'agriculture. En raison notamment du développement rapide des cultures sous verre et de l'intensification des introductions de plantes ornementales de diverses origines, il convenait de reprendre et d'étendre cet inventaire en l'associant à une analyse plus précise des dégâts ainsi qu'à une revue des espèces étrangères de Pseudococcines qui sont potentiellement nuisibles chez nous.

Par ailleurs, en ce qui concerne les espèces les plus abondantes sur les cultures de notre littoral méditerranéen, celles du groupe *Planococcus citri*, *Pseudococcus maritimus* ainsi que *P. adonidum*, il s'est avéré que pour leurs caractères (taxonomie,

biologie, éthologie, spécificité alimentaire), il subsistait de nombreuses imprécisions et contradictions et qu'une étude biosystématique constituait une étape indispensable avant d'envisager de nouvelles perspectives de lutte.

I. — IMPORTANCE ÉCONOMIQUE DES PSEUDOCOCCINES EN FRANCE

Les Cochenilles farineuses sont souvent considérées comme des insectes à affinité essentiellement subtropicale. En fait, si des pullulations considérables sont effectivement signalées sous ces climats, il a été également noté des dégâts sensibles dans des conditions écologiques fort différentes telles que celles du delta du Nil, des zones semi-désertiques de l'Afrique septentrionale et du Moyen-Orient, des rivages pontiques, des montagnes arméniennes et même de l'Ukraine.

A. — *Nature des dégâts*

Les Pseudococcines sucent la sève de leurs plantes-hôtes. De ce fait, elles ont une action spoliatrice, une action phytotoxique et irritative et elles peuvent transmettre des virus aux végétaux dont elles se nourrissent. De plus, le miellat qu'elles excrètent favorise l'installation de mycoses ou d'autres insectes ravageurs des plantes cultivées.

Action spoliatrice.

Cette action spoliatrice provoque deux catégories de dégâts.

Premièrement, sur des arbres fortement attaqués, le prélèvement de sève sur jeunes fruits et à leur point d'attache sur le pédoncule fait jaunir et même peut faire tomber prématurément une partie de la récolte. Cette chute, due à une déshydratation d'ailleurs accélérée par les vents chauds et secs, affecte particulièrement les agrumes dans le Bassin méditerranéen (BODENHEIMER, 1951).

Deuxièmement, une contamination, même faible, de ces Coccides provoque le jaunissement de la base des feuilles et celui-ci peut gagner toute la plante qui se dessèche alors rapidement. Des dégâts de cette nature s'observent notamment sur les plantes ornementales cultivées sous serre.

Action phytotoxique et irritative.

En introduisant leurs stylets dans les tissus végétaux, les Pseudococcines injectent de la salive. Celle-ci a une action phytotoxique et irritative manifestée de deux façons.

D'une part, les jeunes boutons floraux sont très sensibles aux piqûres de ces insectes. Un petit nombre de ceux-ci suffit pour arrêter le développement des bourgeons sur des arbres fruitiers ou pour déformer les fleurs des plantes ornementales.

D'autre part, à la suite d'une forte infestation, la salive accumulée dans des fruits en cours de maturité produit un début de plasmolyse des tissus, au niveau des points d'attaque. Ce début de dépérissement prépare l'attaque ultérieure d'autres insectes tels que les Drosophiles, les Carpophiles (Coléoptères, *Nitidulidae*) ; la Pyrale *Ecto-*

myelois ceratoniae (ZELLER) succède souvent à *Planococcus citri* (RISSO) sur les agrumes (TRABOULSI et BENASSY, 1965).

Transmission de virus.

Les Cochenilles farineuses sont d'importants vecteurs de virus. Par exemple, *Peliococcus perfidiosus* BORHSENIUS est, en Crimée, l'agent de propagation d'une virose du Tabac sur laquelle cet insecte est commun. Mais c'est surtout dans les pays tropicaux que les Pseudococcines vectrices de virus sont nombreuses et les viroses qu'elles transmettent causent des dégâts considérables aux plantes cultivées, par exemple sur Cacaoyer en Afrique occidentale.

Action du miellat.

Ces insectes excrètent du miellat en quantité variable selon les espèces et la composition de la sève ingérée. Cet excrétat est projeté plus ou moins loin sur les organes végétaux où il cause des dégâts, indirectement.

Premièrement, des Fumagines se développent sur cette excrétion sucrée en recouvrant l'ensemble de la plante d'un feutrage noir. Ces champignons gênent l'assimilation chlorophyllienne et causent le dessèchement des feuilles et des rameaux. Sur les fruits d'espèces variées, sur les feuilles des plantes ornementales, l'envahissement par les Fumagines provoque des taches jaunes qui subsistent malgré un lavage à grande eau précédé ou non d'un traitement cuprique. Ces productions végétales sont alors dépréciées du point de vue commercial. Le miellat et les Fumagines qui recouvrent celui-ci attirent des insectes mycophages ou détritiphages tels que les Psocoptères, inoffensifs pour les végétaux, ainsi que des insectes plus ou moins polyphages, tels que des Teignes ou des Pyrales, dont il est difficile de savoir s'ils sont indifférents ou nuisibles pour les plantes qui les hébergent.

Deuxièmement, le miellat est attractif pour quelques déprédateurs. Par exemple, la Pyrale des Agrumes, *Cryptoblabes gnidiella* MILL., dont la chenille provoque la chute des fruits, pond de préférence sur les organes végétaux recouverts de ce produit sucré (CHAPOT et DELUCCHI, 1964). En Palestine et en Afrique du Nord, *Planococcus vitis* NIED. vit parfois sur les racines de la Vigne où le miellat qu'il rejette permet l'installation de *Bornetina* (*Polyporus*) *corium* MANGIN et VIALLA. Le mycélium de ce champignon ralentit l'absorption racinaire. Un acarien, *Rhizoglyphus echinopus* CLAP., attaque les racines des plants déjà affaiblis par la Cochenille et le champignon ; la succession de ces trois organismes radicicoles provoque le dépérissement de la Vigne appelé « Maladie de Jaffa » (BODENHEIMER, 1951).

Enfin, les Fourmis sollicitent ces Coccides, aériens ou radicicoles, pour qu'ils excrètent des gouttes de miellat dont elles se nourrissent. Nous avons noté un comportement prédateur chez des Fourmis qui dévoraient sur place quelques larves de premier et de deuxième stade de Pseudococcines, mais seulement dans de rares cas. Par contre, nous avons eu l'occasion d'observer ce même comportement vis-à-vis d'insectes utiles tels que les jeunes larves d'une Coccinelle du genre *Scymnus*. Divers auteurs (ANNECKE, 1959, 1963 ; FLANDERS, 1951, 1958, 1963 ; DE BACH, DIETRICK, FLESCHNER et FISHER, 1950 ; FLUKER, HUDDLESTON et BEARDSLEY, 1968) ont déjà attiré l'attention sur l'agressivité des Fourmis vis-à-vis des Chalcidiens parasites qu'elles empêchent de pondre dans leur Cochenille-hôte. Pratiquement, elles protègent les Coccides contre leurs ennemis naturels.

B. — *Les Pseudococcidae nuisibles aux cultures dans le midi de la France*

Deux ouvrages donnent quelques indications sur l'intérêt économique des Pseudococcines en France. BALACHOWSKY et MESNIL (1936) citent cinq espèces de ce pays : *Planococcus citri* (RISSO), *Pseudococcus adonidum* (LINNÉ), *P. comstocki* (KUWANA), *Spilococcus mamillariae* (BOUCHE) *comb. n.* (1) et *Nipaecoccus nipae* (MASKELL). BONNEMAISON (1961) cite ces deux premiers insectes pour leurs dégâts sur plantes ornementales.

Les observations que nous avons effectuées depuis quelques années dans le midi de la France, ont permis de faire un premier inventaire des Cochenilles farineuses ayant un intérêt économique, dans cette région, et de préciser les modalités de leur pullulation.

1. *Inventaire des espèces nuisibles.*

Dans le midi de la France, *Pseudococcus adonidum* (LINNÉ), *P. fragilis* BRAIN, *P. obscurus* ESSIG, *Planococcus citri* (RISSO) et *Chorizococcus lounsburyi* (BRAIN) arrivent à pulluler très fréquemment en serre même en l'absence de chauffage. Ces insectes sont alors très nuisibles à diverses plantes ornementales notamment aux plantes à bulbe et à rhizome. Par exemple, *P. obscurus* commet des dégâts importants dans les serres de *Clivia*.

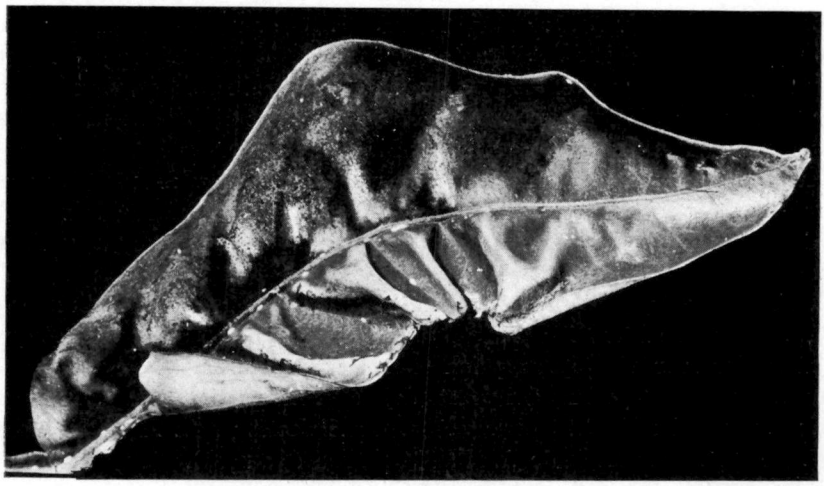


FIG. 1. — *Dégâts de* Planococcus citri (RISSO) *sur feuille de* Citrus reticulata (photo Zoologie I.N.R.A., Antibes)

En dehors de la Côte d'Azur, nous avons effectué peu d'observations en plein air. Cependant, nous avons noté de sérieux dégâts de *Pseudococcus obscurus* sur des jeunes *Robinia pseudacacia*, plantés comme arbres d'avenue à Perpignan (Pyrénées-Orientales), plusieurs attaques du même insecte sur *Zygocactus truncatus*, *Cactus* sp., *Mamillaria* sp., à Toulouse, et des grappes de raisin (*Vitis vinifera*, cépages *Terret gris* et *Aramon rouge*) endommagées par *Planococcus citri* dans la région de Narbonne (Aude).

(1) *Pseudococcus mamillariae* (BOUCHE) doit être rangé parmi les *Spilococcus*.

Sur la Côte d'Azur, nous avons observé jusqu'ici des dégâts, très localisés, des Cochenilles farineuses suivantes :

— *Planococcus citri* sur *Citrus aurantium* (Èze-sur-Mer), *Citrus reticulata* (Menton) (fig. 1) ; *Cupressus sempervirens* (Antibes), *Vitis vinifera* cépages *Muscat de Hambourg* et *Cinsaut* (La Roquette-sur-Siagne) (fig. 2).

FIG. 2. — *Dégâts de* Planococcus citri (RISSO) *sur raisin* (cépage *Cinsaut*)
(photo Zoologie I. N. R. A., Antibes)

— *Pseudococcus adonidum* sur *Platanus acerifolia*, avec chute des feuilles en plein été (Nice, Juan-les-Pins), sur *Nerium oleander* (Beaulieu-sur-Mer).

— *Pseudococcus fragilis* sur *Citrus reticulata* (Menton), sur *Ficus carica* (Mou-

FIG. 3. — *Dégâts de* Chorizococcus lounsburyi (BKAIN) *sur Tubéreuse bleue*
(photo Zoologie I. N. R. A., Antibes)

gins). Cette Cochenille n'a jamais été signalée en France où elle paraît très commune sur tout le littoral méditerranéen.

— *Pseudococcus obscurus* sur diverses Cactacées, Crassulacées et Liliacées ornementales et sur fruits de *Diospyros kaki*, dans plusieurs localités.

— *Chorizococcus lounsburyi* sur Tubéreuse bleue (*Agapanthus umbellatus*) cultivée pour la fleur coupée (Antibes, Saint-Laurent-du-Var) (fig. 3). Cette espèce, très répandue en plein air dans la région sur diverses Liliacées et Amaryllidacées ornementales, n'a jamais été signalée en France. Elle a été introduite dans plusieurs pays, notamment l'Angleterre et la Hollande.

— *Allococcus inamabilis* (HAMBLETON) pullule quelquefois dans les haies de *Cupressus sempervirens* (Antibes, Grasse, Plascassier, Valbonne). Il est probable que cette espèce est assez commune sur la Côte d'Azur ; elle n'était connue jusqu'ici que du Brésil où elle commet des dégâts sur *Cupressus glauca* (HAMBLETON, 1935).

— *Antonina crawi* (COCKERELL) sur *Bambusa* sp., *Phyllostachys aurea* (Beaulieu-sur-Mer, Monaco).

2. *Observations sur les modalités des pullulations.*

Dans la majeure partie de la France, ces Coccides ne commettent d'importants dégâts que dans les serres, sur les plantes vivaces, parmi lesquelles les espèces peu ligneuses souffrent le plus de leur présence. Sur le littoral méditerranéen français, ils pullulent parfois en plein air sur quelques pieds de Vigne ou sur les arbres fruitiers, mais ces pullulations sont épisodiques alors que, dans d'autres pays méditerranéens, elles peuvent se renouveler chaque année. Dans ces derniers, les plantations fruitières ne subissent pas d'attaque généralisée mais elles présentent des taches de contamination intéressant un ou quelques arbres fortement endommagés ; les cultures maraîchères ou ornementales situées sous leur couvert, peuvent être sérieusement attaquées par ces mêmes insectes.

Le littoral méditerranéen, en particulier la Côte d'Azur, est une région d'introduction de nombreuses Cochenilles parmi lesquelles s'observent des *Pseudococcidae*. Le climat de ce littoral est favorable à des pullulations de Coccides subtropicaux, mais les coups de froid hivernaux empêchent ces insectes de se multiplier rapidement toute l'année. De plus, les observations réalisées depuis 1965 montrent que la plupart des Pseudococcines vivant en plein air dans cette région sont très souvent maintenues à un niveau non nuisible par leurs ennemis naturels, même au cours des mois les plus chauds de l'année. Par conséquent, les dégâts sont presque toujours sporadiques et limités à de petits foyers de contamination. Cependant ces pullulations en plein air constituent une utile source d'information sur les potentialités des espèces introduites. Elles permettent d'estimer les risques de contamination de nouvelles cultures aménagées dans les régions méridionales, telles que le Clémentinier et l'Avocatier en Corse. Enfin, des observations, relevées au cours de pullulations occasionnées par des traitements insecticides, donnent quelques indications sur les possibilités de multiplication d'espèces potentiellement nuisibles en l'absence de leurs ennemis naturels. A cet égard, BACCIOLO (1952) et DOMENICHINI (1952) ont effectué des observations intéressantes sur l'incidence de traitements au parathion

sur l'équilibre biologique des populations de *Planococcus citri* (RISSO) et de leurs parasites en Italie, dans le vignoble des bords du lac de Garde.

C. — *Les Pseudococcines potentiellement nuisibles aux cultures en France*

Les Cochenilles farineuses causent fréquemment des dommages à la Luzerne, aux céréales et aux arbres d'avenue ou forestiers en Europe orientale. Dans les montagnes du Caucase et de l'Anti-Caucase, dans les plaines d'Europe et d'Afrique du Nord, plusieurs espèces nuisent aux céréales et aux graminées prairiales (BORHSENIUS et TER GRIGORJAN, 1956 ; TEREZNIKOVA, 1966). De nombreuses Pseudococcines vivent sur des plantes adventices, représentant leur habitat d'origine, et sont en voie de passage sur des graminées cultivées ou bien s'y sont déjà adaptées, atteignant parfois un taux de multiplication élevé sur ces hôtes relativement récents. Par exemple, en Arménie, *Phenacoccus tergrigorianae* BORHSENIUS se développant spontanément sur une ombellifère adventice du genre *Scandix* est devenu un important déprédateur du blé d'automne (*Triticum vulgare* var. *erythrospermum* KÖRN) (BORHSENIUS et TER GRIGORJAN, 1956).

Certains de ces Coccides, nuisibles aux cultures européennes sous des climats tempérés, se rencontrent sur diverses plantes sauvages en France où il est probable qu'elles seront trouvées également dans les cultures. Par conséquent, ces insectes sont potentiellement dangereux pour l'agriculture française puisque leurs dégâts se manifestent déjà sous des climats semblables. Par exemple, *Caulococcus aberrans* (GOUX), commun sur graminées sauvages dans la région lyonnaise, est un déprédateur du Blé et de l'Orge en Ukraine continentale et sur les rivages pontiques à affinités méditerranéennes (BORHSENIUS, 1963 ; TEREZNYKOVA, 1966).

D'autres espèces à affinités steppiques ou méditerranéennes, après être passées de la flore spontanée sur des plantes cultivées en Asie centrale ou sur les bords de la Méditerranée, ont considérablement étendu leur aire de répartition vers l'ouest ou le nord de l'Europe où elles constituent un danger latent ou même effectif pour certaines cultures. On pourrait citer *Phenacoccus hordei* (LINDEMAN), vivant sur des graminées sauvages au Kazakstan, déprédateur du Blé, de l'Orge, du Seigle en Russie et en Ukraine, qui s'est propagé jusqu'en Finlande et aussi en Europe centrale où il est nuisible aux graminées prairiales et surtout au Blé depuis quelques décennies (TEREZNIKOVA, 1966). Ce Coccide se trouve maintenant en Provence sur des graminées adventices.

Le caractère polyphage de beaucoup de Pseudococcines facilite certainement leur adaptation à de nouveaux hôtes, notamment leur passage de la flore sauvage sur des végétaux cultivés. Par exemple, *Planococcus multivorus* (KIRITCHENKO) comb. n. (1) se développe sur de nombreuses plantes sauvages ou adventices en Russie, et sur les bords de la Mer Noire où il est inféodé à une vingtaine d'espèces cultivées, sa multiplication est rapide, causant des dommages à la Luzerne et aux cultures maraîchères.

Une dernière catégorie de *Pseudococcidae* potentiellement nuisibles est représentée par des insectes, accidentellement importés en Europe avec des végétaux de régions chaudes, qui, sporadiquement, pullulent dans le milieu particulier des

(1) *Pseudococcus multivorus* KIR. a la morphologie des *Planococcini* et doit se placer parmi les *Planococcus* ou très près de ce genre.

serres où les conditions écologiques sont parfois favorables à leur développement. Par exemple, *Rhizoecus cacticans* HAMBLETON, importé d'Amérique, vit dans les serres d'Europe sur des Cactacées, des Euphorbiacées, et commet d'importants dégâts sur les Broméliacées ornementales depuis quelques années, en Belgique (D'HERDE, 1965).

II. — CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DE PSEUDOCOCCUS ADONIDUM, P. OBSCURUS ET PLANOCOCCUS CITRI

A. — *Position systématique et intérêt d'une étude morphologique de ces espèces*

P. adonidum a un statut taxonomique bien défini. Par contre, les deux autres insectes font partie de deux groupes d'espèces longtemps confondues sous les noms de *Pseudococcus maritimus* (EHRHORN) et de *Planococcus citri* (RISSO). WILKEY et MC KENZIE (1961) ont montré que *P. maritimus* est un complexe d'espèces où se place *P. obscurus*. Une analyse des travaux morphologiques et surtout biologiques, effectués avant 1961 en Europe, montre que ceux-ci se rapportent très souvent à *P. obscurus* qui est une Cochenille largement répandue dans ce continent, alors que *P. maritimus sensu stricto* l'est beaucoup moins. En ce qui concerne le troisième de ces Coccides, EZZAT et MCCONNELL (1956) ont apporté la preuve taxonomique de l'existence d'un complexe biologique *Planococcus citri* soupçonné par les écologistes depuis quelques années. *P. citri sensu stricto* est une des espèces de ce complexe dont cinq taxons au moins sont représentés en Europe.

Des travaux taxonomiques relatés ci-dessus et de ceux d'écologistes américains et britanniques, il ressort que, dans plusieurs anciennes publications, les références à *P. maritimus* et *P. citri* se rapportent en réalité à deux ou plus de deux espèces de Cochenilles, aux caractères biologiques et écologiques distincts, quoique relativement proches. Il est parfois indispensable de faire une nette distinction entre ces caractères, en particulier quand ils doivent servir de base à des études sur les biocœnoses parasitaires et les méthodes biologiques de lutte contre ces Coccides. Dans ce cas, la distinction est d'autant plus souhaitable que plusieurs membres d'un même complexe biologique peuvent cohabiter sur les mêmes plantes-hôtes. Par exemple parmi les représentants du complexe *P. citri*, *Planococcus vitis* (NIED.) vit aussi bien sur Vigne que sur Figuier en Égypte ; de même pour *P. ficus* (SIGN.) en Italie et en Grèce. Également *P. citricus* EZZAT et MCCONNELL se développe sur Vigne et sur agrumes en Italie ou au Moyen-Orient et, en Provence, *P. citri* (RISSO) se rencontre aussi bien sur agrumes que sur Vigne ou Figuier.

Ces connaissances bio-systématiques récemment acquises montrent clairement la nécessité d'un examen morphologique du matériel récolté dans le midi de la France, avant d'effectuer les observations biologiques au laboratoire. En plus de l'identification des adultes, il est également utile de pouvoir faire la distinction entre les diverses larves devant faire l'objet d'observations biologiques.

B. — *Morphologie des stades larvaires*

Les femelles adultes (fig. 4-6) ne seront pas décrites. Pour leur étude morphologique précise, il faudra se reporter aux travaux des auteurs suivants :

— Pour *P. adonidum :* Borhsenius (1949), Ferris (1950).
— Pour *P. obscurus :* Wilkey et Mc Kenzie (1961) ; Mc Kenzie (1964).
— Pour *P. citri :* Ezzat et Mc Connell (1962).

En ce qui concerne les mâles, les deux premiers stades larvaires sont semblables à ceux des femelles ; *prepupa, pupa* et adultes se distinguent facilement entre eux et n'offrent aucune difficulté de reconnaissance.

1° *Reconnaissance des larves vivantes.*

Il faut parfois déterminer les stades larvaires en conservant les insectes vivants sans les déplacer ou en les enlevant de leur substrat végétal sans casser les stylets des pièces buccales. Des mensurations ont souvent été préconisées dans ces cas-là. Cependant, nous constatons que cette méthode n'est applicable que pour une même plante-hôte (la taille des Cochenilles variant suivant la nature de celle-ci), et pour une population importante où l'hétérogénéité de la taille pour un même stade est compensée par le grand nombre de mesures. Quand le nombre de Cochenilles est limité, ou quand les observations sont faites sur des espèces ou des organes végétaux différents, nous obtenons une bonne identification du stade de développement à l'aide de caractères macroscopiques. Cependant, ces derniers sont inutilisables pour des larves nouveau-nées ou ayant mué depuis moins de vingt-quatre heures.

Caractères macroscopiques des larves de P. adonidum.

1er stade : seulement deux filaments cireux à l'extrémité abdominale, parfois aussi longs que le corps et toujours bien visibles.

2e stade : corps entouré de dix-sept paires de filaments cireux ; la paire de l'extrémité abdominale aussi longue que le corps, la longueur des autres paires atteint au moins la moitié de la largeur de l'insecte. Une zone tégumentaire, plus ou moins dépourvue de cire, apparaît dorsalement le long de la ligne médiane du céphalothorax.

3e stade : mêmes caractères qu'au deuxième stade mais la zone tégumentaire médiane, plus au moins dépourvue de cire, s'étend presque jusqu'à l'extrémité abdominale. Celle-ci avec les deux filaments cireux plus longs que le corps. Cette larve se distingue de l'adulte par le corps très aplati dorso-ventralement.

Larves de P. obscurus.

1er stade : deux filaments cireux à l'extrémité abdominale, très courts mais toujours distincts.

2e stade : les deux filaments cireux abdominaux ont une longueur au moins égale au quart de celle du corps.

3e stade : le corps est entouré de dix-sept paires de filaments cireux, courts, à l'exception de la paire de l'apex de l'abdomen, de longueur au moins égale à la moitié de celle du corps. L'adulte se distingue de cette larve par ses filaments au moins aussi longs que le tiers de la largeur du corps, les deux filaments apicaux étant plus longs que la moitié du corps.

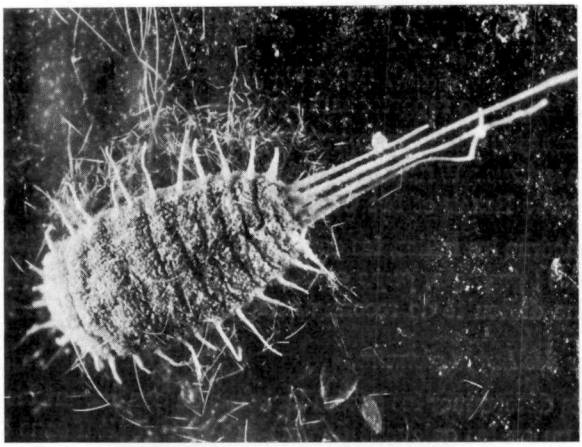


FIG. 4. — *Femelle adulte de* Pseudococcus adonidum (L.)

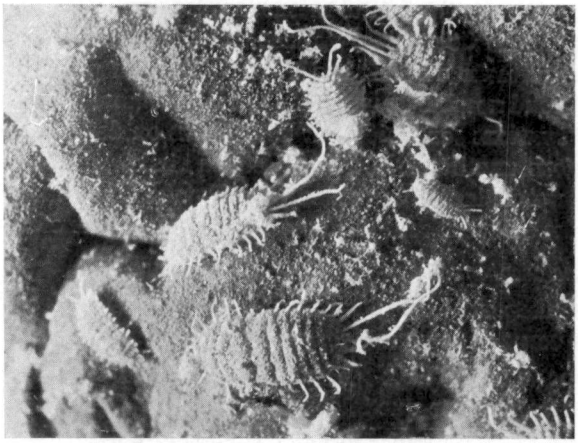


FIG. 5. — *Femelles adultes et larve de* Pseudococcus obscurus (ESSIG)

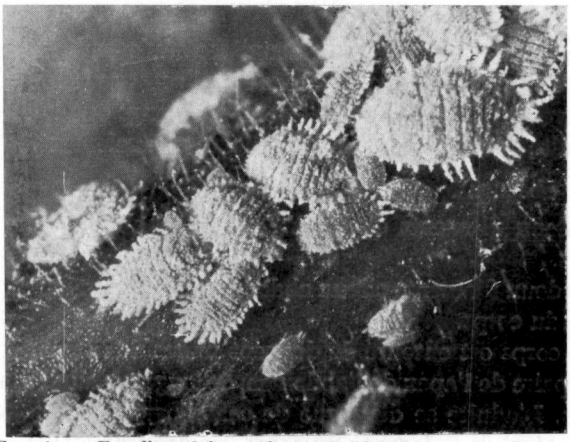


FIG. 6. — *Femelles adultes et larves de* Planococcus citri (RISSO)

(photos Zoologie I. N. R. A., Antibes)

Larves de P. citri.

1er stade : absence de filaments cireux.

2e stade : extrémité abdominale toujours pourvue de deux filaments très courts.

3e stade : quatre à huit filaments, courts, vers l'extrémité abdominale, les deux filaments apicaux environ deux fois plus longs que les autres. Une zone tégumentaire, plus ou moins dépourvue de cire, apparaît le long de la ligne médio-dorsale du corps ; elle est toujours distincte sur les premiers tergites abdominaux et s'étend parfois vers l'avant et vers l'arrière de ces derniers. Le corps de cette larve est légèrement plus aplati dorso-ventralement que celui de la femelle adulte.

D'autres caractères complémentaires servent éventuellement à identifier les espèces à partir des larves ou des femelles adultes vivantes, en plus de l'aspect du revêtement cireux qui permet déjà une distinction facile.

D'une part, la forme du corps de *P. adonidum* est nettement plus allongée que chez les deux autres Cochenilles, *P. obscurus* ayant en outre un aspect blanc rosé alors que *P. citri* est blanc jaunâtre. D'autre part, il est toujours possible de débarrasser la face dorsale de ces insectes de leur cire à l'aide d'un pinceau fin, sans les blesser, et la couleur de l'hémolymphe apparaît à travers le tégument : *P. adonidum* ainsi traité est jaune clair, parfois légèrement brunâtre ou verdâtre, alors que *P. obscurus* est orangé vif, rouge vif ou brun rougeâtre, et *P. citri*, jaune plus ou moins foncé. Ces teintes les distinguent avec certitude des Pseudococcines les plus communes qui cohabitent souvent avec elles sur les mêmes plantes, dans le midi de la France. En particulier, l'hémolymphe de *Pseudococcus fragilis* et celle de *Chorizococcus lounsburyi* ont une couleur invariablement violette.

2° *Caractères microscopiques des larves.*

On ne trouve, dans la littérature, aucune description microscopique des larves de *P. obscurus* et de *P. citri sensu stricto*. A partir d'une série de montages réalisés selon la technique de Balachowsky et Gosselin (1950), nous avons pu définir, entre les différents stades larvaires de ces deux espèces et ceux de *P. adonidum*, un certain nombre de particularités microscopiques qui rendent leur identification aisée et qui sont reportées dans les figures 7 à 15, ainsi que dans la clé de détermination suivante.

Clé de détermination des larves (L_1, L_2, L_3 = larve de 1er, 2e, 3e stade) d'après l'ornementation tégumentaire :

1. Boucle des stylets buccaux dépassant toujours largement le *circulus* (elle atteint l'anneau anal chez les L_1 nouveau-nées). *Cerarii* toujours formés de deux soies fines et d'une filière triloculaire, sauf ceux des lobes anaux constitués par deux soies en forme d'épine et au moins par trois filières triloculaires. Jamais de filière tubulaire. Antennes toujours de 6 articles : 2.

— Boucle des stylets buccaux ne dépassant jamais le *circulus*, au plus atteignant celui-ci. Antennes de 6 ou 7 articles : 4.

2. 17 paires de *cerarii* : 3.

— 18 paires de *cerarii*. Face ventrale des lobes anaux avec deux soies, en plus de la longue soie apicale, et portant une aire sclérotinisée allongée en forme de bâton : L_1 de *P. citri* (fig. 13).

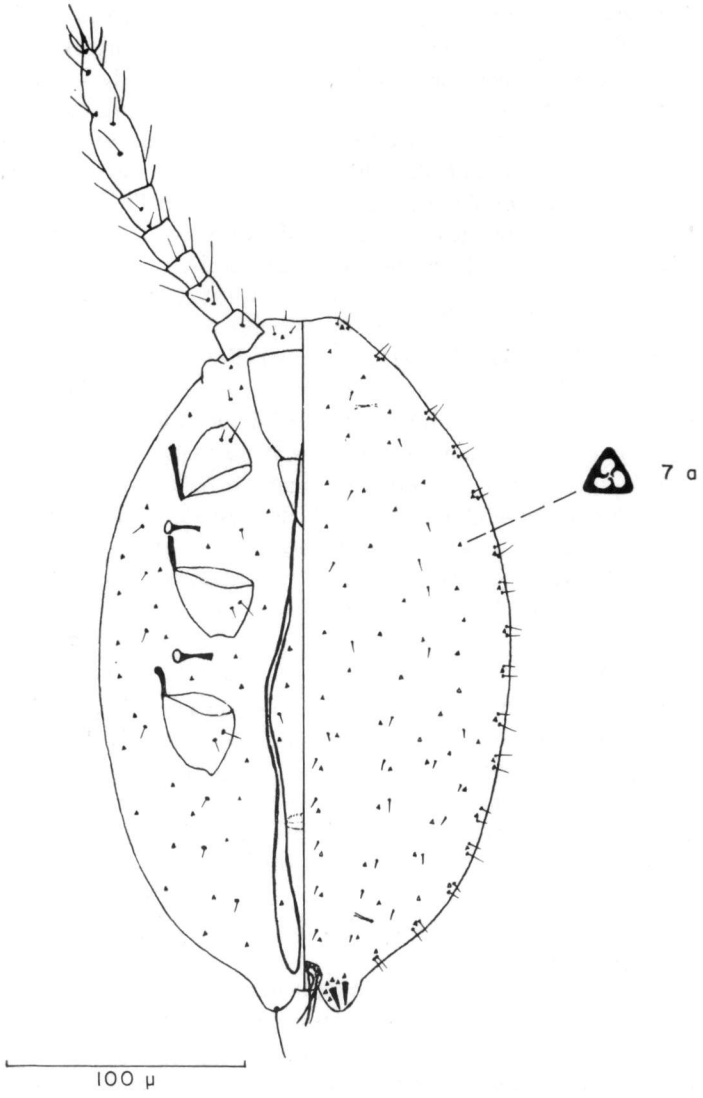


FIG. 7. — *Caractères microscopiques de la larve nouveau-née de* P. adonidum. *7 a:* Filière triloculaire.

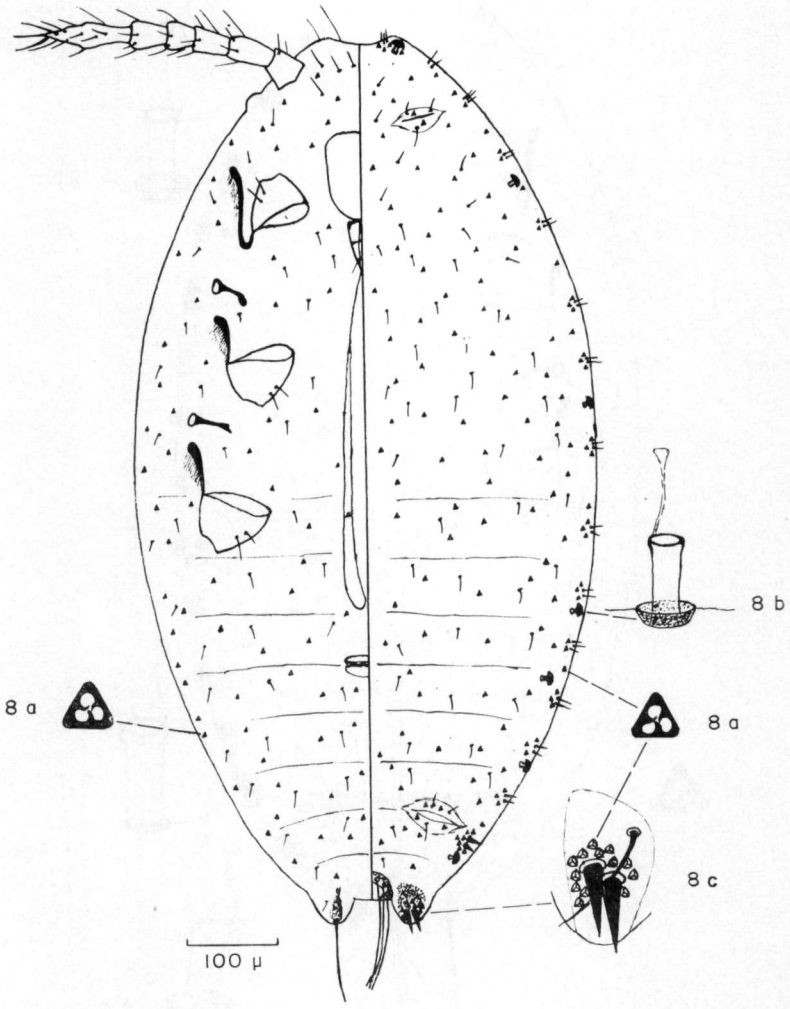


FIG. 8. — *Caractères microscopiques de la larve de 2e stade de* P. adonidum
Filières 8 *a:* triloculaire, 8 *b:* tubulaire de *type « oral rim »* à collerette courte;
8 *c:* 17e *cerarius*

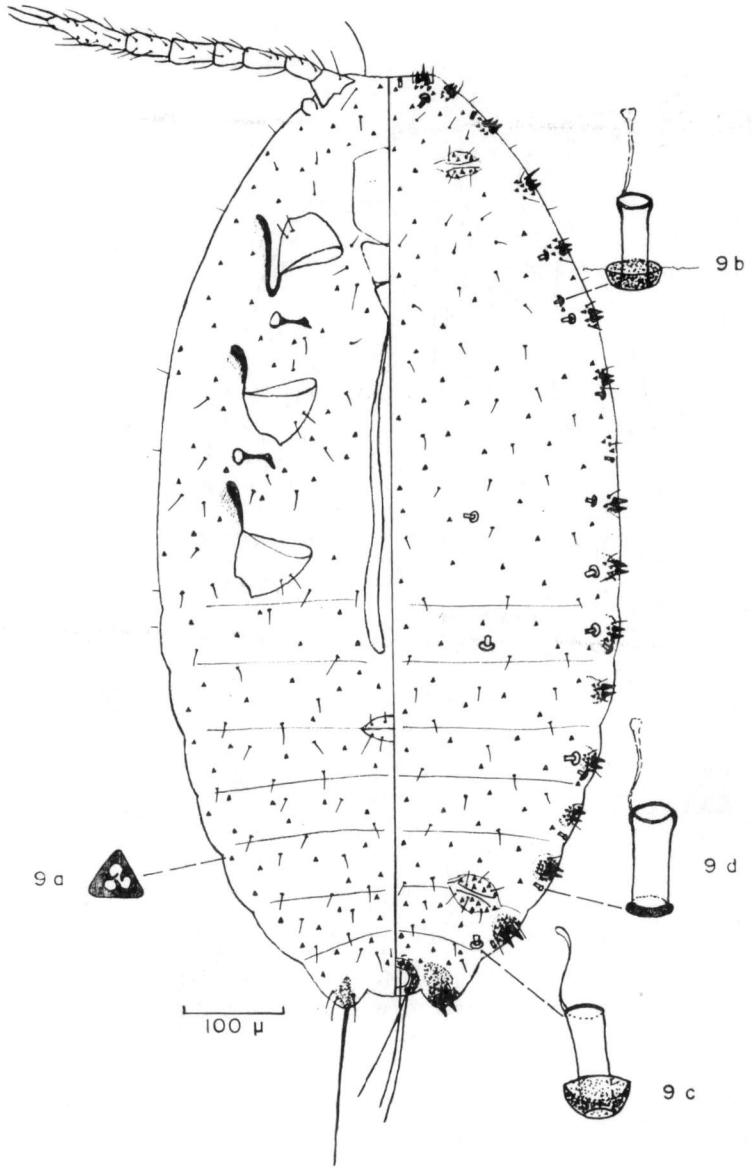


FIG. 9. — *Caractères microscopiques de la larve de 3e stade de* P. adonidum
Filières 9 *a:* triloculaire; tubulaires type « *oral rim* » 9 *b: à collerette courte,*
9 *c:* à collerette longue;
9 *d:* tubulaire de type *oral collar*

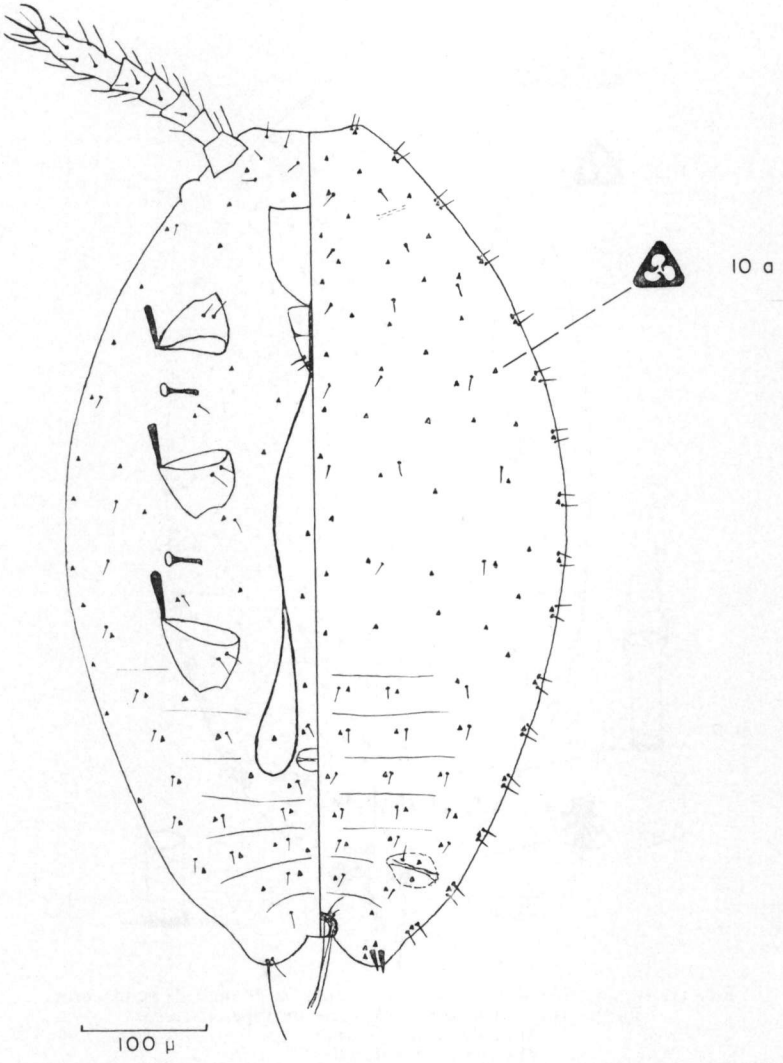


FIG. 10. — *Caractères microscopiques de la larve de 1er stade de* P. obscurus.
10 *a:* filière triloculaire

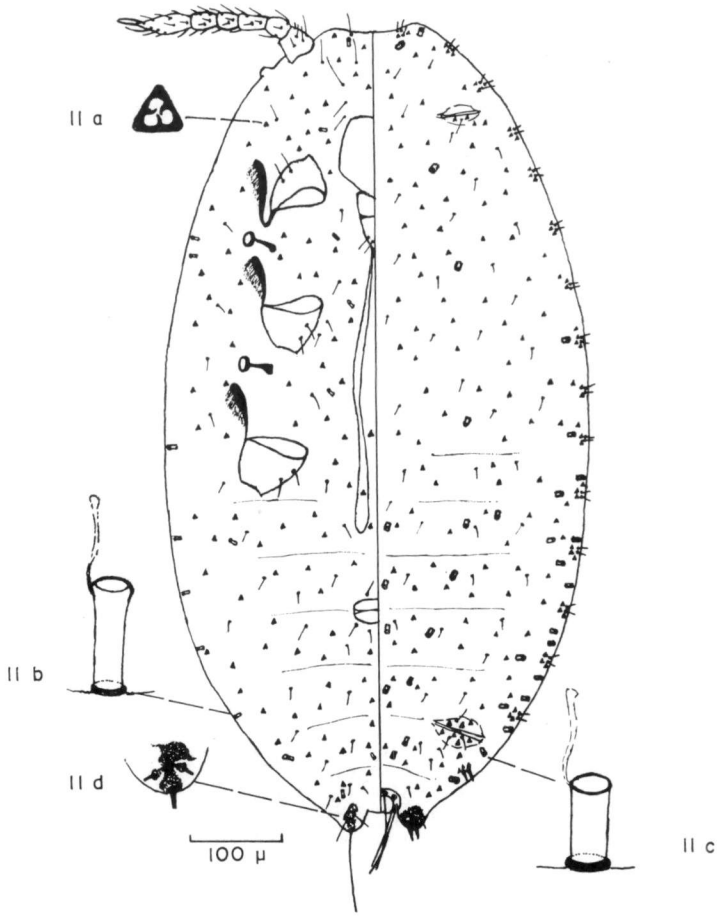


FIG. 11. — *Caractères microscopiques de la larve de 2e stade de* P. obscurus.
Filières II *a:* triloculaire; tubulaires de type *oral collar*
II *b:* de la face ventrale
II *c:* de la face dorsale
II *d:* face ventrale du lobe anal

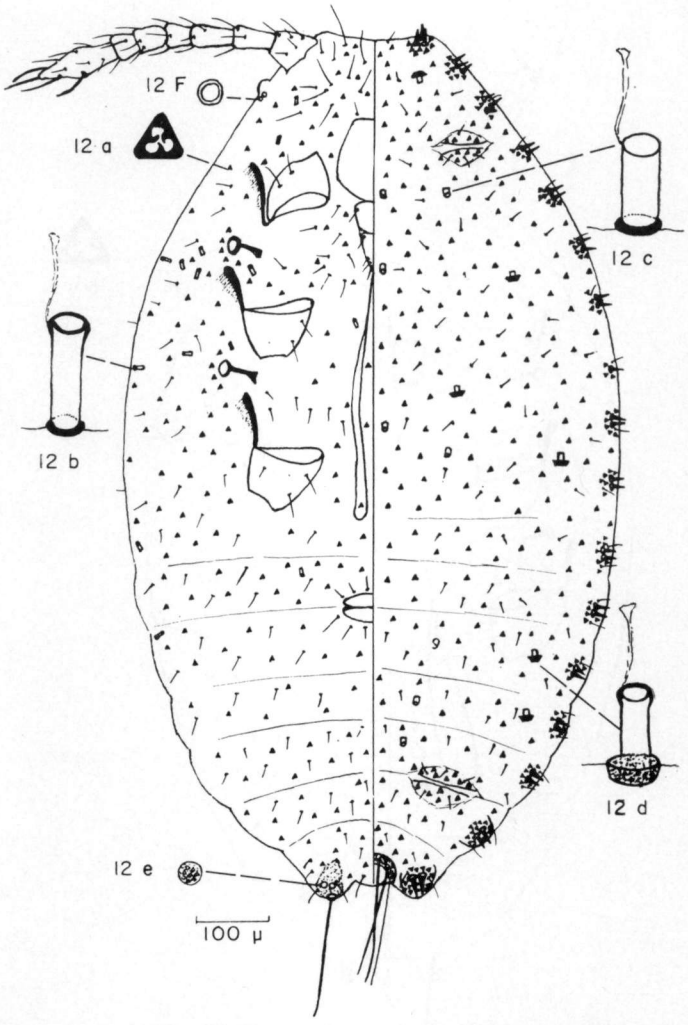


FIG. 12. — *Caractères microscopiques de la larve de 3e stade de* P. obscurus.
Filières 12 *a:* triloculaire; tubulaires de type *oral collar* 12 *b:* de la face ventrale, 12 *c:* de la face dorsale, 12 *d:* tubulaire de type *oral rim* à collerette courte, 12 *e:* multiloculaire de grand diamètre ; 12 *f:* *sensilla placodea*

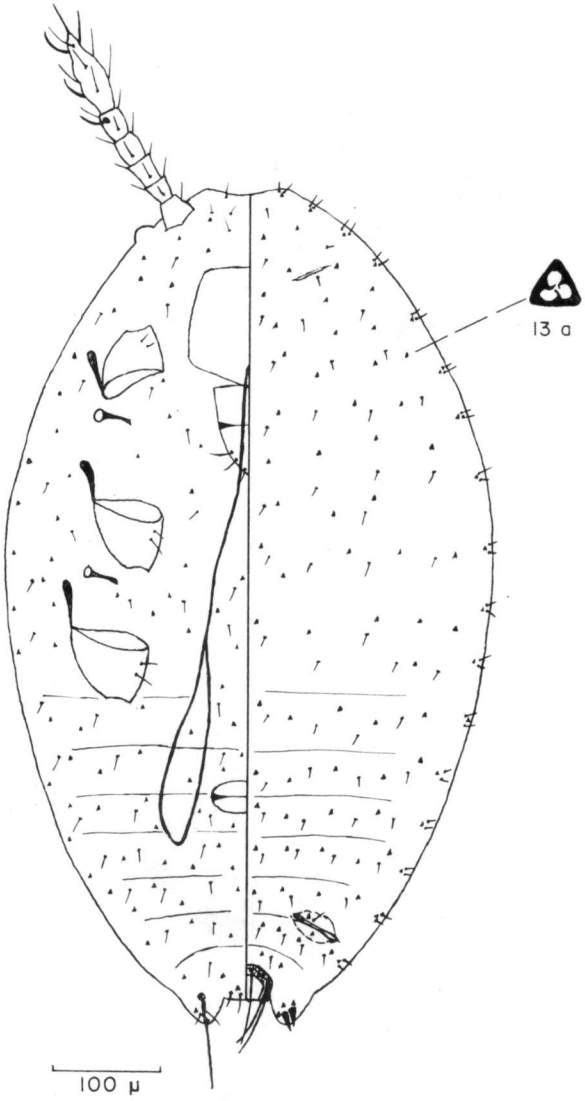


FIG. 13. — *Caractères microscopiques de la larve de 1er stade de* P. citri.
13 *a:* Filière triloculaire

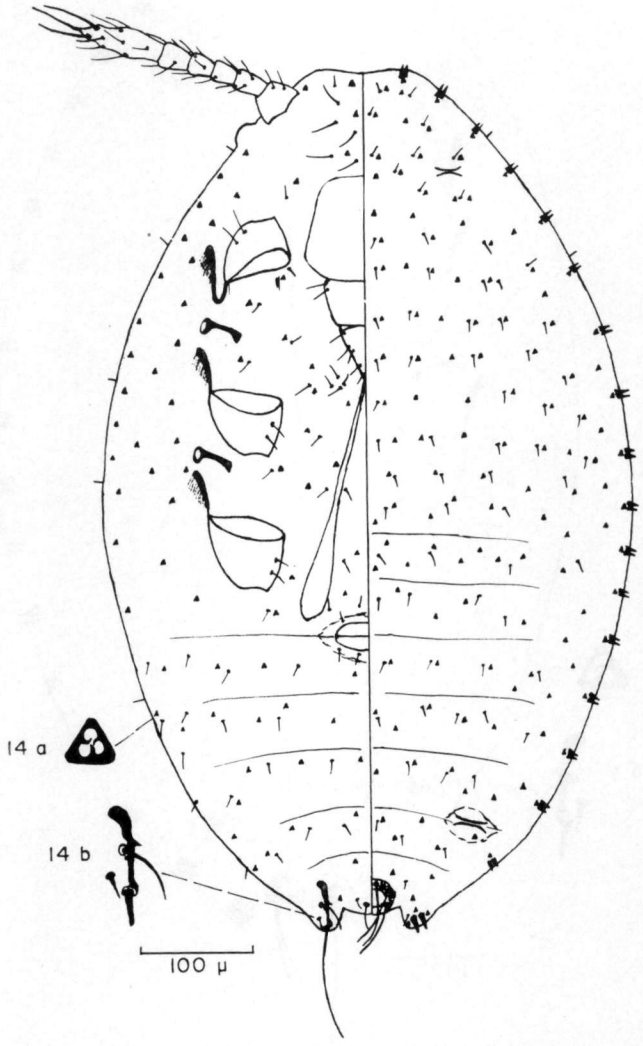


FIG. 14. — *Caractères microscopiques de la larve de 2e stade de* P. citri.
14 *a:* filière triloculaire 14 *b:* face ventrale du lobe anal

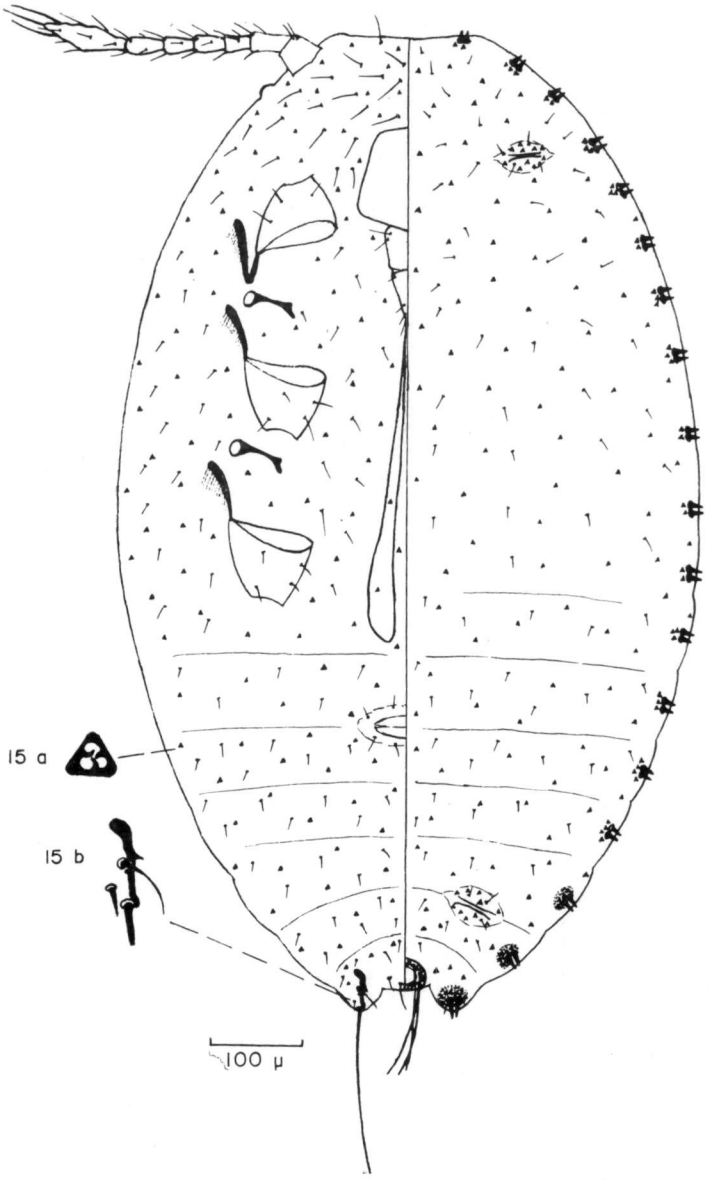


FIG. 15. — *Caractères microscopiques de la larve de 3e stade de* P. citri
15 *a:* filière triloculaire,
15 *b:* face ventrale du lobe anal

3. Face ventrale des lobes anaux avec une ou deux soies, en plus de la longue soie apicale, et quelquefois avec une aire sclérotinisée plus ou moins large et jamais en forme de bâton : L. 1 de *P. obscurus* (fig. 10).

— Face ventrale des lobes anaux avec seulement une longue soie apicale et jamais avec une aire sclérotinisée : L. 1 de *P. adonidum* (fig. 7).

4. Antennes de 6 articles : 5.

— Antennes de 7 articles : 7.

5. 17 paires de *cerarii*. Présence de filières tubulaires : 6.

— 18 paires de *cerarii* pourvus chacun de deux soies en forme d'épine et d'une seule filière triloculaire. Face ventrale des lobes anaux comme chez la L. 1 de *P. citri*. L'aire sclérotinisée en forme de bâton est plus accentuée que chez la L. 1. Elle atteint la base de la soie apicale et une longue soie est insérée au milieu du bâton. Le dernier segment abdominal porte, ventralement et sous l'anneau anal (dorsal), deux soies cisanales et deux obanales, plus courtes que celles de l'anneau. Pas de filière tubulaire : L. 2 de *P. citri* (fig. 14).

6. De 4 à 16 filières tubulaires latéro-dorsales, parfois latéro-ventrales, uniquement du type *oral rim* (définition de FERRIS, 1950) à collerette courte. Soies des *cerarii* fines, sauf celles des 16e et 17e paires, spiniformes ; celles, tantôt de la 6e, tantôt de la 7e ou de la 8e paire, manquent. *Cerarii* de la 17e paire portés par une plaque sclérotinisée légèrement bombée. Lobes anaux avec une aire sclérotinisée ventrale dépourvue de soie : L. 2 de *P. adonidum* (fig. 8).

— Filières tubulaires sur les deux faces du corps, uniquement du type *oral collar* (définition de FERRIS, 1950), les dorsales de plus grand diamètre que les ventrales. Soies des *cerarii* fines, sauf celles des 16e et 17e paires, nettement spiniformes. Lobes anaux avec une aire sclérotinisée ventrale à contours irréguliers, pourvue de deux soie latérales en son milieu : L. 2 de *P. obscurus* (fig. 11).

7. 17 paires de *cerarii*. Filières tubulaires présentes : 8.

— 18 paires de *cerarii*, constitués chacun de deux soies spiniformes, de plus d'une filière triloculaire et toujours dépourvus de soies auxiliaires, sauf la 18e paire qui en a une ou deux. *Cerarii* de la 17e, de la 18e et parfois de la 16e paire placés dans une zone tégumentaire sclérotinisée. Face ventrale des lobes anaux et du dernier segment abdominal comme chez la L. 2 de *P. citri*. Pas de filière tubulaire : L. 3 de *P. citri* (fig. 15).

8. Face ventrale du corps dépourvue de filières tubulaires. Sur la face dorsale : quatre à douze filières tubulaires de type *oral collar* ; quatre à seize, de type *oral rim* à collerette courte, latérales et près des *Cerarii* ; six à vingt de type *oral rim* à collerette longue, sont en arrière des *cerarii* et au milieu des tergites thoraciques et abdominaux. *Cerarii* constitués de deux soies en forme d'épine, d'une à deux soies fines, et de plusieurs filières triloculaires sauf les 6e, 7e ou 8e paires dépourvues de soies spiniformes, la 1re et la 3e paire pourvues de trois de ces soies. Ceux de la 17e paire sont placés sur une large plaque sclérotinisée. Face ventrale des lobes anaux avec une aire piriforme, faiblement sclérotinisée, et avec trois soies, en plus de la longue soie apicale : L. 3 de *P. adonidum* (fig. 9).

— Filières tubulaires de type *oral collar* sur les deux faces du corps, les dorsales de plus grand diamètre que les ventrales, ces dernières en position latérale et en groupe

de quatre à huit en avant des stigmates mésothoraciques. Les filières tubulaires de type *oral rim* à collerette courte sont peu nombreuses et disposées en arrière des *cerarii* ainsi qu'au milieu du céphalothorax. *Cerarii* avec deux soies spiniformes (sauf ceux des 1re et 2e paires qui en ont trois), plus grosses vers l'apex abdominal et le céphalique, une à deux soies fines auxiliaires et de nombreuses filières triloculaires. Ceux des 17e et 18e paires sont placés sur une zone tégumentaire en relief, non sclérotinisée. Face ventrale des lobes anaux avec une large plaque sclérotinisée, piriforme, portant deux soies en plus de la longue soie apicale. Ventralement, près de chaque œil, il y a deux *sensilla placodea* : L_3 de *P. obscurus* (fig. 12).

Les femelles adultes se distinguent facilement des larves par la présence de la vulve, de filières multiloculaires sur les sternites abdominaux et par leurs antennes de huit articles.

III. — OBSERVATIONS BIOLOGIQUES ET ÉTHOLOGIQUES SUR P. ADONIDUM, P. OBSCURUS ET P. CITRI AU LABORATOIRE.

Dans cette étude, nous nous sommes limités à certains aspects mal connus du comportement et de la biologie en essayant, autant que possible, de définir les particularités propres à chacune des trois espèces.

A. — *Matériel et méthodes*

1. *Origine des Cochenilles.*

Planococcus citri a été récolté sur agrumes à Antibes et mélangé à des individus provenant du Maroc, également sur Agrumes. Par suite de sa double origine, ce matériel ne constitue pas une véritable souche. La souche de *Pseudococcus adonidum* et celle de *P. obscurus* proviennent de serres de Toulouse, la première trouvée sur *Yucca sp.* et la seconde sur *Zygocactus truncatus.*

2. *Techniques d'élevage.*

La multiplication massive de *P. obscurus* et de *P. citri* a été effectuée dans des boîtes en carton, sur des tubercules germés de Pomme de terre et à l'obscurité complète. Les germes de cette plante, dans la mesure où ils sont peu pigmentées, accroissent le rendement de l'élevage de ces deux cochenilles qui se reproduisent indéfiniment en l'absence de lumière.

Par contre, ces mêmes conditions ne sont pas favorables au maintien d'une souche de *P. adonidum.* A la lumière naturelle ou artificielle, des tentatives de multiplication sur tubercules germés de Pomme de terre montraient un mauvais rendement, à cause de l'apparition d'un nombre très élevé de mâles par rapport à celui des femelles à chaque génération. Ces résultats nous ont conduit à multiplier *P. adonidum* sur des plantes cultivées en pot, tantôt au soleil, tantôt à la lumière artificielle. En définitive, le Laurier-rose (*Nerium oleander*) a été choisi de préférence à d'autres végétaux tout aussi favorables au développement de l'insecte, comme les *Citrus*, parce qu'il se maintient longtemps en bon état végétatif à la lumière artificielle et qu'il permet d'obtenir des insectes de grande taille.

Pour les besoins expérimentaux, à côté de l'élevage sur Pomme de terre germée, les trois Pseudococcines ont été élevées sur diverses plantes en pot ou sur des feuilles au pétiole, préalablement enraciné, trempant dans du liquide de Knop. Pour des élevages individuels, chaque insecte est isolé soit dans un tube soigneusement fermé, sur un germe issu de tubercule de Pomme de terre, soit sous une minuscule cage dans le cas d'un élevage sur feuilles. Cette cage, cylindrique (de 5 à 30 mm de diamètre et de quelques millimètres de haut) (fig. 16), est fabriquée en collant, avec de l'acétone, de la toile fine de nylon sur un petit cylindre de rhodoïd, de manière à fermer son ouverture supé-

rieure et à former une couronne tout autour de son ouverture inférieure. Cette couronne est facilement collée sur l'une des faces foliaires, avec du sirop de sucre. La cage est parfaitement étanche même pour les minuscules larves nouveau-nées. Elle permet d'élever isolément une Cochenille, dans des conditions de milieu extrêmement proches de celles existant au niveau de la surface libre des feuilles. Ce dispositif expérimental, de poids extrêmement faible et qui laisse libre une très large surface foliaire, est particulièrement bien supporté par les plantes. Toutefois, le sucre provoque localement un début de jaunissement du tissu végétal, après dix à quinze jours, et il convient alors de déplacer les cages et les cochenilles.

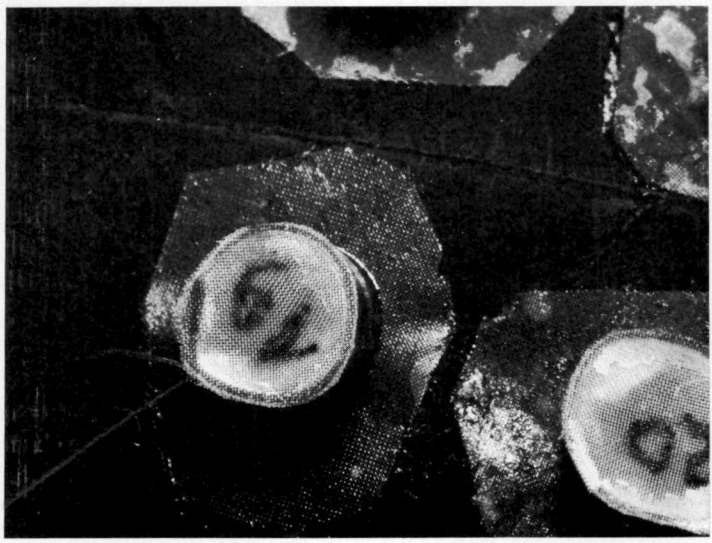


FIG. 16. — *Cages de petit diamètre* (5 à 30 mm) *pour isoler les Cochenilles sur feuilles* (photo Zoologie, I. N. R. A., Antibes)

3. *Conditions expérimentales.*

Sauf cas particulier, tous les essais de laboratoire décrits ci-dessous ont été faits à la température de 26,5° (25°-28°), dans une atmosphère renouvelée et maintenue en permanence à un degré hygrométrique de 60 à 70 p. 100. L'éclairement quotidien de douze heures, par tube au néon imitant la lumière du jour, élevait la température ambiante à 28° pendant douze heures et celle-ci revenait à 25° pendant les douze heures suivant l'extinction des lampes.

B. — *Évolution des stades embryonnaire et larvaire*

1. *Le développement.*

P. adonidum est vivipare et les chorions restent à l'intérieur des voies génitales. *P. obscurus* et *P. citri* sont ovovivipares et la durée d'incubation des œufs varie notablement : parmi les pontes de la même femelle et du même jour, les éclosions s'échelonnent sur cinq jours. De plus, les œufs issus d'une même femelle sont dans un état embryonnaire d'autant plus avancé que celle-ci approche de la fin de la ponte ; de ce fait, la durée d'incubation diminue progressivement, depuis le premier jusqu'au dixième ou vingtième et dernier jour de ponte.

D'après BALACHOWSKY (1939), le premier stade larvaire présente trois périodes évolutives, chez toutes les Cochenilles : torpeur, activité et croissance, la période de torpeur étant assimilée à une diapause. CANARD (1958) a montré, chez *Parthenolecanium corni* (BOUCHE), que la période de torpeur n'est pas une diapause mais une

phase immobile correspondant au temps nécessaire à la larve nouveau-née pour mettre ses stylets buccaux dans la *crumena*. Nous observons la même opération pendant la phase immobile de la larve nouveau-née de *Planococcus citri*. Les trois Pseudococcines étudiées ne présentent d'ailleurs aucun signe de diapause.

La phase active commence après cette période de « torpeur » et les larves, se déplaçant à la recherche d'un substrat végétal convenable, possèdent un phototactisme ainsi qu'un hygrotactisme positifs. Elles ne peuvent pas subsister longtemps sans prendre de nourriture et nous avons noté une phase active maximale de trois jours chez *P. citri*. Ensuite les larves commencent à se nourrir et augmentent de taille. Leur faculté de se déplacer subsiste pendant tout leur développement larvaire.

L'évolution des stades larvaires et imaginal de la femelle est caractérisée par une alternance de périodes d'alimentation plus ou moins interrompues et de déplacements de courte durée. Avant chacune des trois mues successives, la femelle cesse de se nourrir pendant les trois ou quatre jours durant lesquels ses stylets buccaux ne sont plus fonctionnels, puis l'exuviation s'effectue en deux à quatre heures.

Chez le mâle, la larve cesse définitivement de s'alimenter au deuxième stade, peu avant la formation du *puparium*. Elle recherche alors un emplacement lui procurant la plus large surface de contact de son corps avec le substrat végétal. Elle s'immobilise à cet endroit, généralement une zone anguleuse. Elle sécrète le *puparium* cireux à l'intérieur duquel elle passe ses deux derniers stades larvaires et le temps nécessaire à l'adulte pour déplier ses ailes, durcir ses téguments et sécréter son revêtement cireux. La sécrétion du *puparium* est terminée en douze heures environ et la larve peut en fabriquer un deuxième quand elle est forcée d'abandonner le premier.

2. *Le comportement.*

L'éthologie des larves de Pseudococcines est peu connue. Afin de mieux comprendre la répartition de ces Coccides sur les plantes cultivées, nous avons effectué quelques essais de laboratoire, susceptibles d'expliquer la localisation de ces Cochenilles sur les végétaux.

En ce qui concerne les larves mâles, nous avons établi que la lumière n'a aucune influence sur la localisation des *puparia* de *P. obscurus* et *P. citri*. Il en est de même pour le contact avec d'autres *puparia*, que ceux-ci hébergent encore ou non d'autres larves mâles de leur propre espèce ou d'autres Pseudococcines. Si on les remplace par de minuscules tortillons de coton fixés sur le substrat végétal, de manière à imiter la forme et la texture des *puparia*, les larves viennent tisser le leur contre le coton, aussi facilement qu'en présence d'une aspérité quelconque de leur plante-hôte. La nature chimique des *puparia* ainsi que leur texture n'ont pas plus d'influence que la lumière. Par conséquent, les larves s'immobilisent, en fin de deuxième stade, uniquement sous l'action d'un réflexe thigmotactique, les accumulations de *puparia* observées dans les élevages s'effectuant aux emplacements offrant les meilleures possibilités de contact entre un substrat quelconque et le corps de ces larves.

A l'état larvaire et au début de la vie imaginale, les femelles de *P. adonidum* se localisent essentiellement sur la face inférieure des feuilles de leurs plantes-hôtes. Cette particularité tend à disparaître chez les femelles adultes, peu avant la ponte. La relation avec une humidité plus élevée à la surface inférieure des feuilles peut être éliminée puisque en retournant celles-ci, face supérieure vers le bas, les larves migrent à la face supérieure. En éclairant la plante par le bas, elles restent sur la face inférieure

des feuilles, quelle que soit l'intensité de la lumière utilisée. Par conséquent, elles orientent sélectivement leur corps, la face dorsale tournée vers le bas, indépendamment de l'intensité et de la direction de la lumière incidente. On n'a jamais trouvé d'organe sensoriel analogue aux statocystes chez les Coccides ; ils ne posséderaient que des soies sensorielles et des *sensilla placodea*. Des expériences rigoureuses et précises seraient nécessaires pour établir définitivement la nature géoménotropique ou géoménotaxique de ce réflexe d'orientation ; d'autant plus que celui-ci disparaît vraisemblablement, ou bien ne prédomine plus chez les femelles adultes de *P. adonidum* avant la ponte. De plus, nous remarquons des modifications de ce comportement d'orientation chez les larves, suivant leur plante-hôte. Alors qu'il est observable très nettement sur *Nerium oleander* ou sur *Citrus aurantium*, il est suivi par une fraction plus ou moins importante des individus sur *Phaseolus vulgaris* par exemple, probablement en liaison avec la structure de la surface foliaire, en particulier avec la densité des poils épidermiques. En conclusion, la répartition de cette espèce est influencée par certains stimuli internes et externes (pesanteur, structure foliaire, stade ou âge des insectes).

Ce comportement ne se retrouve pas chez *P. obscurus* et *P. citri* qui vivent indifféremment sur les deux faces foliaires de beaucoup de végétaux. D'autre part, si *P. adonidum* ne se développe bien qu'à la lumière, les deux autres, par contre, vivent sans difficulté à l'obscurité complète. Cependant, ces deux Coccides migrent à la face inférieure des feuilles quand ils passent brusquement de l'obscurité, ou de la pénombre, à la lumière artificielle vive ou naturelle. Ceci explique que les déplacements de leurs larves soient fréquents sur des végétaux soumis à l'éclairage artificiel, dans une pièce climatisée, avec brusque passage de l'obscurité complète à la lumière intense des tubes au néon. Ces insectes, au laboratoire, se déplacent peu sur les plantes qui ne reçoivent la lumière solaire directe que progressivement, au cours de la journée.

Chez *P. citri*, nous observons une localisation préférentielle des larves, sur une plante telle que *Phaseolus vulgaris*, liée à l'état de l'épiderme foliaire. Ces insectes ne s'installent pratiquement pas sur la face supérieure des feuilles de la variété *Coco nain blanc* (sauf le long des nervures principales), alors qu'ils se développent indifféremment sur les deux faces des feuilles de la variété à rames *Le Parisien*. Or, la pilosité des feuilles de *Coco nain blanc* est plus dense sur la face supérieure que sur l'inférieure et elle est moins dense sur la face supérieure des feuilles de la variété *Le Parisien* que sur celle de *Coco nain blanc*. Comme les larves de cette Pseudococcine sont obligées de s'accrocher solidement au substrat végétal pour y enfoncer leurs stylets buccaux, des poils épidermiques très rapprochés les uns des autres gêneraient leur prise de nourriture et, s'ils étaient acérés, risqueraient même de les blesser. Par conséquent, la densité des poils épidermiques expliquerait assez bien les différences constatées dans la localisation des larves de certaines Pseudodoccines sur les plantes cultivées ; il est probable que, selon les cas, différents facteurs anatomiques peuvent donner l'explication de localisations préférentielles.

C. — *La vie imaginale*

1. *L'accouplement.*

Les mâles ont un phototactisme positif. Par ailleurs, les femelles vierges attirent fortement les mâles quelles que soient leurs positions relatives par rapport à une

source lumineuse et le rapprochement des sexes a lieu même à l'obscurité. Ces faits impliquent l'existence d'une attraction olfactive. Ce phénomène semble assez général chez les Coccides puisqu'on a mis déjà en évidence des substances attractives spécifiques, appelées phéromones sexuelles secondaires, chez le *Diaspididae Aonidiella aurantii* (TASHIRO et CHAMBERS, 1967), chez le *Margarodidae Matsucoccus resinosae* (DOANE, 1966) et chez *Planococcus citri* (GRAVITZ et WILLSON, 1968). Les femelles des trois Pseudococcines, étudiées ici, n'attirent plus les mâles une fois fécondées et l'accouplement ne se répète pas. La longévité des mâles est de un à cinq jours durant lesquels ils peuvent féconder plusieurs femelles. JAMES (1937) estime à sept le nombre moyen de femelles de *P. citri* fécondées par un mâle, le maximum étant vingt-trois. Les femelles sont fécondables quelques heures après leur mue imaginale. Chez *P. citri* nous avons réussi à différer l'accouplement de trente et un jours et, dans ces conditions, la ponte a lieu dans les heures suivantes en donnant des œufs fertiles ; JAMES (1937) affirme que l'accouplement a lieu encore deux mois et demi après la dernière mue des femelles. Normalement, nous observons une coïncidence entre celle-ci et la sortie des mâles issus de la même ponte.

Nos essais d'accouplements interspécifiques sont restés infructueux. Cependant BREGMAN (1968) accouple artificiellement des femelles de *P. obscurus* avec des mâles d'autres espèces (non citées) et il obtient des descendants.

2. *La reproduction.*

Les données concernant le mode de reproduction de ces trois Pseudococcines sont contradictoires.

JAMES (1937) note la reproduction bisexuée obligatoire chez *P. adonidum*, *Pseudococcus maritimus*, *sensu lato*, et *Planococcus citri*, *sensu lato*. OTT (1960) n'observe pas de ponte chez *P. obscurus* vivant dans les serres en Allemagne, en l'absence d'accouplement. Par contre, CLAUSEN (1915) signale une parthénogenèse facultative chez *P. citri*, *sensu lato*, vivant sur agrumes en Californie et, avec le même insecte, MEYERS (1932) obtient trois générations successives sans accouplement. GRAY (1954), voulant vérifier le résultat de MEYERS, trouve que *P. citri* ne présente pas de parthénogenèse. BLASQUEZ (1966), travaillant avec une souche de *P. citri* en provenance d'Antibes (France), remarque que les femelles non fécondées pondent autant d'œufs que celles qui le sont, quoique avec un certain retard par rapport à ces dernières.

Avec le matériel en élevage, nous avons observé une reproduction bisexuée obligatoire chez *P. adonidum*, *P. obscurus* et *P. citri*. Toutefois, quelques femelles vierges de *P. obscurus* sécrètent un ovisac, de forme normale mais vide d'œufs. GRAY (1954) note le même phénomène chez *P. citri*. D'après CANARD [1], la formation de l'ovisac et la ponte sont deux phénomènes différents chez les Pulvinaires (*Coccidae, Pulvinariini*) qui sécrètent couramment un ovisac complet, sans pondre d'œufs.

Afin de vérifier les résultats obtenus par CLAUSEN et par BLASQUEZ, selon lesquels *P. citri* présente une parthénogenèse facultative, nous avons recommencé les expériences avec trois souches de cet insecte récoltées sur diverses plantes de la Côte d'Azur. Après leur deuxième mue, des larves de troisième stade étaient élevées isolément. Celles des deux premières souches récoltées à Antibes respectivement sur agrumes et Cyprès (*Cupressus sempervirens*) et celles de la troisième souche recueillies à Grasse

[1] Communication personnelle.

sur Figuier (*Ficus carica*) ont été placées séparément, en plein air, sous des petites cages fixées à la face inférieure des feuilles de Mandariniers (*Citrus reticulata*) et de Clémentiniers (*Citrus* sp.). Les *Citrus* ont été choisis comme plantes-hôtes parce que CLAUSEN avait fait ses observations sur ces plantes et que BLASQUEZ a travaillé sur une souche issue vraisemblablement de récoltes sur agrumes. Au cours des expériences, la température a oscillé approximativement entre + 10° et + 30° et l'hygrométrie relative de l'air entre 10 p. 100 et 60 p. 100 (valeurs enregistrées à quelques mètres des arbres).

Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

Ces résultats prouvent qu'il existe une parthénogenèse facultative chez *P. citri*, la plupart des œufs ayant donné des larves.

Quelques ovisacs renfermant des œufs ont été placés isolément sur des tubercules germés de Pomme de terre, dans une enceinte maintenue à 28° où l'hygrométrie relative de l'air variait de 40 à 70 p. 100 ; toutes les précautions étaient prises pour éviter l'introduction d'autres insectes. A la première génération, très peu de mâles

TABLEAU I

Nombre de femelles à reproduction parthénogénétique chez P. citri *élevé sur agrumes en plein air*

Nombre d'individus en expérience	Souche récoltée sur :		
	Citrus	*Cupressus*	*Ficus*
Larves de 3e stade	100	100	100
Femelles adultes vivantes 1 mois après leur mue.....	46	29	62
Idem 40 jours après la mue :			
1. Sécrétion d'ovisac sans ponte	0	8	3
2. Ponte de moins de 50 œufs	0	5	2
3. Ponte de plus de 50 œufs	0	1	17
Total femelles parthénogénétiques	0 (0 %)	6 (20 %)	19 (30 %)

sont nés de ces œufs parthénogénétiques ; bien qu'aucun comptage systématique n'ait été effectué, il est possible d'affirmer que leur nombre n'a pas dépassé 10 p. 100 du nombre total des individus. A la deuxième génération ces Cochenilles, élevées en *inbreeding*, ont donné un nombre plus important de mâles. Nous n'avons pas poursuivi plus loin ces investigations sur la parthénogenèse. Des observations plus précises permettront certainement de définir les causes du déclenchement de la ponte sans fécondation et de l'apparition de mâles parthénogénétiques chez cette Pseudococcine. A la lumière de ces résultats, il faut s'attendre à découvrir une parthénogenèse facultative chez d'autres espèces, par exemple chez *P. obscurus*. Cependant, dès à présent, la preuve est faite que le phénomène de formation de l'ovisac est différent du processus de ponte, chez les Pseudococcines.

L'ovisac de *P. adonidum*, formé de filaments cireux très fins, d'aspect réticulé, recouvre partiellement la face dorsale et les bords du corps de l'insecte. Celui-ci abandonne parfois ce filet de cire à une ou deux reprises, même au cours de la ponte, et en sécrète un autre un peu plus loin. Les larves sont expulsées sous la face ventrale de la Cochenille.

Habituellement, la femelle de *P. obscurus* reste immobile et l'ovisac, formé d'un feutrage serré de filaments cireux, est rabattu sur son corps. Les deux filaments de l'apex abdominal se détachent de l'insecte et restent accrochés à l'arrière de l'ovisac. Les œufs sont expulsés dans celui-ci en chapelet serré, replié plusieurs fois sur lui-même ; il en est de même pour les œufs de *P. citri*. La femelle de ce dernier reste habituellement immobile au cours de la ponte, et l'ovisac soulève progressivement la partie postérieure de son corps.

La sécrétion de l'ovisac et la ponte s'arrêtent à une température comprise entre 7 et 10°C ; dans la chambre climatisée dont la température moyenne est de 26,5°, *P. adonidum* donne naissance à 10 à 30 larves par jour. Des variations de cet ordre existent également pour les œufs pondus par les deux autres Pseudococcines. Nelson-Rees (1960) a montré, d'une part, que le rythme de ponte est conditionné par le stade de maturité des ovarioles au moment de l'accouplement, c'est-à-dire par l'âge auquel la femelle est fécondée, d'autre part qu'un accouplement différé trop longtemps entraîne une résorption ovocytaire partielle. En conséquence, cet auteur trouve que les femelles les plus fécondes sont celles qui s'accouplent quarante à cinquante jours après leur naissance. Il est probable que de nombreux facteurs écologiques influent sur la fécondité de ces insectes et cette diversité des facteurs expliquerait les variations importantes du nombre de descendants parmi les femelles d'une même colonie de Pseudococcines.

D. — *Le cycle biologique*

Du fait que le taux de mortalité est élevé, notamment aux stades embryonnaire et larvaire, la durée du cycle biologique doit être évaluée en partant d'un grand nombre d'individus dont beaucoup meurent au cours de leur développement. Nous manquons de données concernant le taux de mortalité naturelle des trois espèces. Il est probable que, dans la nature, leur mortalité est très élevée (supérieure à 95 p. 100). Dans la chambre climatisée (26,5°), ces Cochenilles se trouvent sur des plantes très favorables à leur multiplication et avec un climat artificiel certainement proche de leur optimum de développement. Parmi les espèces ayant servi aux diverses expérimentations, nous avons compté les individus morts en cours de développement et nous avons trouvé un taux de mortalité de 75 p. 100, ce nombre ne comprenant pas la mortalité des œufs en cours d'incubation, ou celle des larves à l'intérieur des voies génitales dans le cas de *P. adonidum*.

Le tableau 2 donne une idée des variations de la durée du développement de chacun des stades post-embryonnaires.

Comme l'éclosion, l'accouplement et la ponte des femelles sont étalés sur un nombre très variable de jours, les générations successives se chevauchent. Toutefois, à 26,5°C, nous évaluons la durée moyenne du cycle biologique à 45, 50 et 35 jours, respectivement pour *P. adonidum*, *P. obscurus* et *P. citri*. Dans les conditions naturelles, sur la Côte d'Azur, le nombre annuel de générations est de 2 à 3 chez ces trois

Pseudococcines, parfois de 5 pour *P. citri* quand l'hiver est doux. Dans cette région, ces insectes hivernent à tous les stades. Cependant, d'après les essais de laboratoire, la femelle adulte avant la ponte est le stade le plus résistant au froid et les œufs conservés dans leur ovisac sont les plus résistants à la sécheresse atmosphérique.

TABLEAU 2

Durée de développement et longévité des femelles de P. adonidum, P. obscurus *et* P. citri *à 26,5°*

Espèces	Durée de développement des larves				Durée des différentes phases de la vie imaginale			
	Nb (1)	L_1 (2)	L_2	L_3	Nb (1)	A_1 (3)	A_2	A_3
P. adonidum	7	11 ± 1,5	9,5 ± 1	9 ± 1,5	30	0 à 50	10 à 28	6 à 22
P. obscurus	16	12 ± 1	9,5 ± 0,5	8 ± 0,5	30	0 à 50	9 à 22	5 à 18
P. citri.....	47	7 ± 0,5	5,5 ± 0,5	5 ± 0,5	30	0 à 50	7 à 10	4 à 15

(1) Nombre d'individus observés.

(2) L_1, L_2, L_3 = 1er, 2e et 3e stades larvaires. Le premier nombre donne la durée moyenne de développement en jours et le deuxième, les limites de l'intervalle de confiance au seuil 0,01.

(3) Durée de la vie imaginale : A_1 = de la mue à l'accouplement ;
A_2 = de l'accouplement à la ponte ;
A_3 = période de ponte ;

Les chiffres donnés correspondent aux durées minimales et maximales observées.

E. — *Action de la plante-hôte sur la multiplication des trois Pseudococcines*

Le caractère polyphage généralement attribué à ces Coccides est peut-être limité par le manque de valeur appétitive ou nutritionnelle de quelques-unes de leurs plantes-hôtes. Dans ce cas, l'incompatibilité du végétal pourrait se manifester par un taux de mortalité pratiquement égal à 100 p. 100, par un ralentissement notable du développement larvaire ou par une fécondité des femelles faible ou nulle. Nous avons tenté de vérifier partiellement cette hypothèse, en étudiant essentiellement l'action de la plante sur la fécondité des femelles. Ces essais ont été réalisés au laboratoire sur végétaux en pot. Bien que l'éventail des plantes disponibles soit limité, nous nous sommes efforcés d'utiliser des espèces appartenant à des familles végétales aussi variées que possible et présentant en même temps un intérêt horticole et agronomique. D'après ce que l'on connaît de cette question chez d'autres insectes, le mode de culture influence largement les résultats expérimentaux : la valeur appétitive et la valeur nutritionnelle du végétal sont susceptibles d'être profondément modifiées par sa culture au laboratoire. Il est hasardeux de vouloir en tirer des conclusions pour ce qui se passe dans les conditions normales de la vie des insectes, sauf peut-être en ce qui concerne le milieu particulier des serres dans le cas des Pseudococcines.

La fécondité des femelles, élevées depuis leur naissance sur des germes de Pomme de terre ou sur les feuilles d'autres plantes, est représentée dans le tableau 3. Dans ce tableau figure également l'analyse des résultats par la méthode SNEDECOR ; celle-ci a été choisie, de préférence aux autres, parce que nous nous sommes limités à la com-

paraison globale des fécondités. La validité de cette méthode d'analyse statistique a été confirmée par M. MILLIER, chargé de recherches à la Station de Biométrie du C. N. R. F. de Nancy, que nous tenons à remercier ici.

L'analyse des résultats indique un rapport des deux variances nettement supérieur à la valeur de F dans le cas de *P. obscurus*. Par conséquent, la fécondité de cette espèce varie notablement suivant la nature de la plante-hôte étudiée, alors que celle de *P. adonidum* varie très peu ($U_F/U_R = 3{,}18$ et $F = 3{,}10$) et celle de *P. citri* ne varie pas de façon significative.

TABLEAU 3

Fécondité des femelles de P. adonidum, P. obscurus, P. citri *élevées sur diverses plantes à 26,5°*

Plante-Hôte	N = nombre de femelles ayant pondu — Fm = fécondité moyenne (nombre d'œufs, ou nombre de larves pour *adonidum*)					
	P. adonidum		*P. obscurus*		*P. citri*	
	N	Fm	N	Fm	N	Fm
Beta vulgaris potagère					5	106
Cactus sp.			7	175	—	—
Citrus aurantium	10	109	—	—	20	327
Gossypium hirsutum var. *barbadense*	—	—	—	—	8	341
Nerium oleander	10	148	3	165	5	206
Phaseolus vulgaris « Coco nain blanc »	10	103	11	173	10	233
Prunus domestica « Reine-Claude »	10	128	10	194	10	231
Solanum tuberosum « Bintje »	20	114	20	285	20	341
Vitis vinifera	10	75	9	78	10	169
Zygocactus truncatus	8	96	8	342	—	—
Estimation de :						
Variance factorielle U_F	6.107		139.466		27.845	
Variance résiduelle U_R	1.951		7.700		14.221	
Rapport U_F/U_R	3,18		18,1		1,97	
F des tables au seuil 0,01	3,10		3,13		2,87	

L'expérience précédente apporte une preuve de fluctuations de la fécondité suivant les plantes-hôtes. Par conséquent, une Pseudococcine polyphage n'est pas toujours apte à se multiplier rapidement sur n'importe quel végétal ; ceci n'avait jamais été précisé jusqu'ici.

Nous avons observé d'autres manifestations d'incompatibilité végétale qui tendraient à prouver que la polyphagie de certaines Pseudococcines n'est pas illimitée. En effet, *P. adonidum* ne peut pas se développer sur *Aloe* sp. et sur *Gossypium hirtusum* variété *barbadense*, quel que soit son stade. Ces végétaux ne figurent dans aucune liste d'hôtes habituels de *P. adonidum*. Par contre, ce dernier existe dans les haies de *Pittosporum tobira* en Provence (BALACHOWSKY, 1932) mais se développe très lentement sur cette plante au laboratoire et en plein air à Antibes. Comme pour l'espèce précédente, le taux de mortalité de *P. obscurus* est de 100 p. 100 sur *Gossy-*

pium hirsutum variété *barbadense* et aussi sur *P. tobira* et *Citrus aurantium* ; il en est de même pour *P. citri* sur *Cactus* sp. Cependant, ce dernier se multiplie rapidement sur *G. hirsutum* sur lequel il n'a jamais été signalé en plein air, dans les régions cotonnières où ce Coccide existe. Par conséquent, une polyphagie limitée n'exclut pas une adaptation de *P. citri* à de nouveaux hôtes.

F. — *Action des facteurs externes sur le* sex-ratio

James (1937, 1938), Hughes-Shrader (1948) et Nelson-Rees (1960) ont mis en évidence l'action de facteurs internes et externes sur la proportion relative des sexes chez *P. adonidum*, *P. maritimus sensu lato* et *P. citri*. Ces auteurs n'ont pas étudié l'action de la nourriture sur le *sex-ratio* de ces insectes. D'après les observations que nous avons effectuées, nous croyons pouvoir formuler l'hypothèse suivant laquelle l'état physiologique de la plante-hôte agirait sur le *sex-ratio* de *P. citri*.

En effet, des larves de premier et de deuxième stade de cette Cochenille, isolées sous de petites cages sur feuilles de Haricot, donnent toujours une proportion plus élevée de mâles, sur les feuilles présentant un début de jaunissement, que sur celles qui restent bien vertes. Un premier comptage, en utilisant des feuilles de haricot enracinées et cultivées sur liquide de Knop, a indiqué 18 mâles pour 4 femelles sur feuilles jaunissantes et 7 mâles pour 20 femelles sur feuilles restées vertes.

D'autre part, les mâles des trois espèces sont toujours plus nombreux sur des plantes dépérissantes.

Ces observations sont à rapprocher de celles de Robert [1], suivant lesquelles l'apparition des mâles dépendrait de la plante et non de la présence de ceux-ci dans la génération précédente, chez *Parthenolecanium corni* B., souche polyvoltine. Chez les trois Pseudococcines, la mortalité différentielle des sexes ne paraît pas être le seul facteur modificateur du *sex-ratio* mais des expériences complémentaires seraient nécessaires.

CONCLUSIONS

Cette étude a permis tout d'abord d'apporter des précisions sur l'importance économique des Pseudococcines dans le midi de la France et notamment de mettre en évidence l'existence de dégâts sur cultures de plein air, en particulier sur cultures ornementales. Elle montre également que plusieurs espèces, nouvelles pour la France et déjà bien acclimatées, étaient jusqu'alors passées inaperçues bien qu'elles causent fréquemment des dégâts en horticulture. Ces résultats militent en faveur d'une poursuite de cet inventaire et justifient des mesures prophylactiques destinées à éviter d'autres introductions malheureuses.

La partie de ce travail consacrée à la systématique souligne l'importance d'une connaissance précise des caractères morphologiques des *Pseudococcidae*, pour un écologiste ou un biologiste qui entreprend leur étude, surtout quand ces caractères permettent la distinction des divers insectes d'un même complexe, biologiquement et écologiquement différents. En effet, il eût été vain de vouloir préciser, dans cet exposé-

[1] Communication personnelle.

ci, les caractères biologiques d'un des membres du complexe *maritimus* ou *citri*, en s'en tenant à une détermination taxonomique approximative.

La biologie de *Pseudococcus adonidum*, *Pseudococcus obscurus* et *Planococcus citri* est présentée tantôt comme une vérification d'observations antérieures effectuées dans diverses régions du monde, tantôt comme une étude complémentaire de caractères éthologiques et écologiques peu ou pas connus. Cette manière de faire ne donne pas un aperçu général de la biologie de ces insectes, mais nous avons mentionné les ouvrages auxquels on pourra se référer pour un complément d'information. Par contre, cette présentation met en lumière les erreurs qui se perpétuaient dans la littérature jusqu'à ces dernières années : par exemple, la diapause des larves nouveau-nées est à réfuter définitivement, au moins chez ces trois Pseudococcines ainsi que chez *Parthenolecanium corni* et certainement chez un grand nombre de Coccides ; il en est de même pour le nombre de stades larvaires des *Pseudococcidae* qui est de trois, et non de deux comme on le signale couramment. Par ailleurs, l'existence ou l'absence de parthénogenèse facultative chez *P. citri* apparaît ici comme un faux problème puisque, de toute évidence, le déclenchement de la ponte sans accouplement préalable dépend de facteurs du milieu qui restent encore à définir. Enfin, il est définitivement prouvé que le déclenchement de la ponte et celui de la sécrétion de l'ovisac par cette Cochenille sont des réponses à des stimuli différents dont la nature est encore obscure.

L'observation du comportement de ces trois Coccides sur leur substrat végétal a été délaissée complètement jusqu'ici, certainement par le manque d'attrait, pour l'éthologiste, de ces insectes peu mobiles. Cependant, une telle étude met en évidence une orientation des larves de *P. adonidum* par rapport à la pesanteur, avec des modifications de ce tropisme occasionnées par la structure épidermique du végétal. Ceci montre le travail intéressant restant à faire sur la distribution de ces insectes.

Les recherches concernant l'action de la plante-hôte sur la biologie des Pseudococcines étaient pratiquement inexistantes et le terme « polyphage », appliqué à ces insectes pour indiquer qu'ils vivent aux dépens de nombreux végétaux, est resté extrêmement vague. Notre étude a montré qu'en dehors d'une réaction par tout ou rien (présence ou absence d'insecte), il convenait d'attacher également une importance particulière à des phénomènes beaucoup plus nuancés tels que la variation de la fécondité ou du taux de mortalité en fonction de la plante-hôte. A cet égard, il conviendrait de considérer non seulement l'espèce végétale mais éventuellement ses conditions de végétation.

Enfin, des observations préliminaires permettent de formuler l'hypothèse selon laquelle la plante influerait également sur le *sex-ratio* de *P. citri*, en produisant peut-être d'autres effets qu'une mortalité différentielle du sexe au cours du développement larvaire.

Reçu pour publication en avril 1969.

SUMMARY

FAUNISTICAL AND BIOLOGICAL OBSERVATIONS ON SOME *PSEUDOCOCCIDAE* LIVING IN SOUTHERN OF FRANCE

In the course of a quick list of Pseudococcids really and potentially injurious to crop plants in Southern of France, many new species for the country are reported. Regarding to P. *adonidum*, *P. obscurus* and *P. citri*, different aspects of larval taxonomy and behaviour, of mating (olfactory

attraction of virgin females) and reproduction (parthenogenesis) yet badly known are defined. At last, the author establishes that nature or vegetative conditions of host-plant might have a notable action on fecundity, survival rate of larvae and sex-ratio. For this last aspect, differential mortality of sexes should not be the only cause.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNECKE D. P., 1959. The effect of parathion and ants on *Coccus hesperidum* L. (*Coccidae: Hemiptera*) and its natural enemies. *J. entomol. Soc. S. Afr.*, **22** (1), 245-274.

ANNECKE D. P., 1963. Observations on some Citrus pests in Mozambique and Southern Rodhesia. *J. entomol. Soc. S. Afr.*, **26** (1), 195-225.

BACCOLO S., 1952. Esperimenti di lotta contro *Pseudococcus citri* RISSO. *Boll. Zool. agr. bachic.*, Milano, **18** (2-3), 107-115.

BALACHOWSKY A., 1932. *Étude biologique des Coccides du Bassin occidental de la Méditerranée*. 28 p. Lechevallier Éd., Paris.

BALACHOWSKY A., 1939. *Les cochenilles de France, d'Europe, du nord de l'Afrique et du Bassin méditerranéen*. III. Caractères généraux des Cochenilles : reproduction, développement embryonnaire, développement postembryonnaire. 114 p. Hermann. Éd., Paris.

BALACHOWSKY A., GOSSELIN M. T., 1950. Conservation et préparation microscopique des Cochenilles et des Pucerons. *L'Entomologiste*, **6** (2), 40-47.

BALACHOWSKY A., MESNIL L., 1936. *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées*. 1921 p. Méry Éd., Paris.

BLASQUEZ J. R. E., 1966. Étude des glandes cirières tégumentaires chez *Pseudococcus citri* RISSO (*Homoptera, Coccoidea*). Variation de la chétotaxie, des organes sensoriels et des glandes cirières tégumentaires au cours du développement larvaire. *Ann. Inst. nat. agron.*, **4**, 263-314.

BODENHEIMER F. S., 1951. *Citrus Entomology in the Middle East*. 663 p. Junk Ed., s' Gravenhage.

BONNEMAISON L., 1961. *Les ennemis animaux des plantes cultivées et des forêts*. 599 pp. I. S. E. P. Éd., Paris.

BORHSENIUS N. S., 1949. Faune de l'U. R. S. S. *Homoptera Coccoidea, Pseudococcidae* (en russe). *Inst Zool. Acad. Sci.* Éd., Moscou, Leningrad, (n. s.) (**38**) 7, 383 pp.

BORHSENIUS N. S., 1963. Détermination pratique des Cochenilles (*Coccoidea*) des plantes cultivées et forestières de l'U. R. S. S. *Inst. Zool. Acad. Sc.* Éd., Moscou, Leningrad, **81**, 311 pp.

BORHSENIUS N. S., TER GRIGORJAN M. A., 1956. Les Cochenilles farineuses parasites du Blé et d'autres Céréales en R. S. S. d'Arménie (en russe). *Bull. Acad. Sc. R. S .S Arménie, Sc. Biol. Agr.*, **9** (4), 17-27.

BREGMAN A. A., 1968. Formation and size regulation capacity of the serose in male embryos of the Mealy Bug *Pseudococcus obscurus* ESSIG. *Diss. Abstr., B.* **29** (1), 57 B.

CANARD M., 1958. Recherches sur la morphologie et la biologie de la Cochenille *Eulecanium corni* BOUCHE (*Homoptères-Coccoidea*). *Ann. E. N. S. A.*, Toulouse, **6** (2), 185-271.

CHAPOT H., DELUCCHI V. L., 1964. *Maladies, troubles et ravageurs des Agrumes au Maroc*. 339 p. Inst. nation. Rech. agron. Éd., Rabat.

CLAUSEN C. P., 1915. Mealybugs of Citrus tree. *Bull. agr. exper Stn*, Berkeley, **258**, 19-48.

DE BACH P., DIETRICK E. J., FLESCHNER C. A., FISHER T. W., 1950. Periodic colonization of *Aphytis* for control of the California Red Scale, Preliminary tests, 1949. *J. econ. Entomol.*, **43** (6), 783-802.

D'HERDE J., 1965. La Cochenille des racines des Cactées (*Rhizoecus cacticans* HAMBLETON). (en flamand). *Rapp. d'activité du C. R. A. de l'État*, Gand, 92-93.

DOANE C. C., 1966. Evidence for a sex attractant in females of the red pine scale. *J. econ. Entomol.*, **59** (6), 1 539-1 540.

DOMENICHINI G., 1952. Parassiti e iperparassiti di *Pseudococcus citri* RISSO in Italie e nel Perù. *Boll. Zool. agr.*, Portici, **17** (3), 26 pp.

EZZAT Y. M., MCCONNELL H. S., 1956. A classification of the mealybug tribe *Planococcini* (*Pseudococcidae: Homoptera*). *Maryland Agric. exper Stn. Bull.*, **A-84**, 3-108.

FLANDERS S. E., 1951. The role of the Ant in the biological control of Homopterous Insects. *Canad. Entomol.*, **83** (4), 93-98.

FLANDERS S. E., 1958. The role of the Ant in the biological control of Scale Insects in California. *Proc. 10 th. internation. Congr. Entomol.* Montréal 1956, 4, 579-584.

FLANDERS S. E., 1963. Predation by parasitic Hymenoptera, the basis of Ant-induced outbreaks of a host species. *J. econ. Entomol.*, **56** (1), 116.

FERRIS G. F., 1950. *Atlas of the scale insects of North America*, Ser. 5. The Pseudococcidae (part I). Stanford Univ. Press Éd., California, 278 p.

FLUKER S. S., HUDDLESTON E. W., BEARDSLEY J. W., 1968. Some effects of the big-headed Ant on populations of the pink sugarcane Mealybug. *J. econ. Entomol.*, **61**, 474-477.

GRAVITZ N., WILLSON C., 1968. A sex pheromone from the Citrus Mealybug. *J. econ. Entomol.*, **61**, 1 458-1 459.

GRAY H. E., 1964. The development of *Citrus* mealybug. *J. econ. Entomol.*, **47**, 174-176.

HAMBLETON E. J., 1935. Notas sobre *Pseudococcidae* de importancia economica no Brasil com a descripçâo de quatro especies novas. *Arch. Inst. Biol. São Paulo.*, **6**, 105-120.

HUGHES-SCHRADER S., 1948. Cytology of Coccids (*Coccoidea-Homoptera*), in Advances in Genetics, **2**, *Acad. Press Inc.* éd., *New York*, 127-201.

JAMES H. C., 1937. Sex ratios and the status of the male in *Pseudococcinae*. *Bull. entomol. Res.*, **28**, 429-461.

JAMES H. C., 1938. The effect of the humidity of the environment on sex ratios from aged ova of *Pseudococcus citri* (RISSO) (*Hemiptera, Coccidea*). *Proc. r. entomol. Soc.*, London, ser. A, *Gen. Ent.*, **13**, 73-79.

MEYERS L. E., 1932. Two economic greenhouse Mealybugs of Mississipi. *J. econ. Entomol.*, **25** (4), 891-896.

MCKENZIE H. L., 1964. Fourth taxonomic study of California Mealybugs, with additional species from North America, South America and Japan (*Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae*). *Hilgardia*, **10** (35), 211-272.

NELSON-REES W. A., 1960. A study of sex-predetermination in the Mealybug *Planococcus citri* (RISSO). *J. exper. Zool., Philadelphia*, **144**, 111-137.

OTT R., 1960. *Untersuchungen über die Gewächshausschildläüse* Pseudococcus maritimus EHRH., Aspidiotus hederae (VALL.) und Diaspis bromeliae (KERN.) (Coccoidea). Thèse Fac. Sc. Justus Liebig, Univ. Giessen, 119 p.

TASHIRO H., CHAMBERS D. L., 1967. Reproduction in the California Red Scale, *Aonidiella aurantii* (*Homoptera, Diaspididae*). I. Discovery and extraction of a female sex pheromone. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **60** (6), 1166-1170.

TEREZNIKOVA E. M., 1966. Importance économique des *Coccoidea* (*Insecta, Homoptera*) de la zone forestière d'Ukraine. (en ukrainien). *Dopov. Acad. Sc. R. S. S. Ukr.*, **5**, 768-681.

TRABOULSI R., BENASSY C., 1965. Les Cochenilles des agrumes au Liban et leurs parasites naturels. *Magon*, n° 5, 13 pp.

WILKEY R. F., MCKENZIE L. L., 1961. Systematic status of the *Pseudococcus maritimus-malacearum* complex of mealybugs (*Homoptera: Coccoidea Pseudococcidae*). *Calif. Dept. Agric. Bull., Sacramento (California)*, **50** (4), 245-249.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 245-264.

LA CONSANGUINITÉ CHEZ LES LÉPIDOPTÈRES *NOCTUIDAE*. MISE EN ÉVIDENCE DE SON IMPORTANCE DANS LA CONDUITE D'ÉLEVAGES EN CONDITIONS ARTIFICIELLES

S. POITOUT
avec la collaboration technique de R. BUES

Station de Zoologie agricole,
Centre de Recherches d'Avignon, 84 - Montfavet
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Une souche de Lépidoptère *Noctuidae*, maintenue en élevage artificiel, dégénère généralement en 2 à 3 générations. Cette dégénérescence est due à une consanguinité trop stricte. Un aménagement rationnel de l'élevage permet le maintien constant de la souche. La démonstration en est faite spécialement chez *Helicoverpa armigera*, permettant en même temps d'aborder le problème de génétique écologique posé par cet insecte. L'influence de la consanguinité est aussi montrée chez d'autres espèces : *Amathes c. nigrum*, *Spodoptera exigua*, *Mamestra oleracea*, *Peridroma saucia*.

INTRODUCTION

Le caractère défavorable des croisements hautement consanguins, pour la survie de l'espèce, est un phénomène connu et classique en génétique. Chez les Insectes, il ne semble pas que des études nombreuses et précises aient été faites sur le rôle de la consanguinité à l'échelle d'une population naturelle et pour un insecte donné. On sait que certains d'entre eux se reproduisent avec un certain degré de consanguinité (insectes gallicoles). Pour d'autres, au contraire, il est souvent admis que leur considérable prolificité, jointe à leur grande mobilité, provoque un brassage tel que, des

croisements entre individus, il résulte du point de vue génétique des populations, soit une panmixie presque parfaite (Lépidoptères et Diptères migrateurs) soit, dans la plupart des cas, une consanguinité de faible degré. Cependant, l'apparition de races locales résistantes aux insecticides (le caractère de résistance étant souvent intermédiaire ou dominant, GEORGHIOU, 1965) a pu prouver parfois les limites du brassage. Les phénomènes d'apparition de races nouvelles, sous une pression de sélection déterminée, ont amené à poser le problème de l'isolement géographique et celui de la formation d'unité reproductive. L'apparition des races de couleur mélanisées chez certaines espèces de Lépidoptères en donne différents exemples ; le plus célèbre est celui concernant la race mélanisée de *Biston betularia* dans les régions très industrialisées d'Angleterre.

Les Lépidoptères *Noctuidae* présentent une diversité de cycle évolutif très considérable, allant de l'endémisme ou de la sédentarité stricte dans des biotopes limités à des déplacements très amples de type migratoire, touchant des individus répartis sur de vastes territoires. Il peut apparaître, chez une espèce sédentaire, des races géographiques (écotypes) différenciées par des types de développement variables suivant les facteurs auxquels elles sont soumises dans leurs aires respectives de répartition. Par contre, chez une espèce dont les adultes sont des migrateurs types, des différenciations de cet ordre ne peuvent généralement pas être mises en évidence.

Chez deux espèces de noctuelles (*Helicoverpa zea* BODDIE et *Helicoverpa armigera* HÜBNER) le problème de la consanguinité, sous son aspect écologique, a été bien posé par HARDWICK (1965). Son rôle, très difficile à mettre en évidence dans les études écologiques, apparaît tout de suite comme un facteur fondamental difficile à ignorer dès que l'on a à faire des élevages de laboratoire et à maintenir des souches réduites d'insectes.

Les tentatives faites par différents auteurs pour mener à bien un élevage de *H. zea* (1) ou de *H. armigera* (2) sur alimentation naturelle pendant plusieurs générations successives ($G_1 \cdot \cdot \cdot G_n$) leur ont permis de faire diverses observations.

ELLISOR (1935) observe que les insectes appartenant à la G_2 sont peu vigoureux et que les œufs pondus par les femelles ne sont pas viables.

WATERS (1943) indique trois facteurs qui sont autant d'obstacles à la poursuite d'un élevage pendant plusieurs générations : le cannibalisme, la sensibilité de l'espèce aux maladies et surtout l'incertitude d'obtenir l'accouplement des adultes donc la ponte des œufs fertiles.

CALLAHAN (1958) constate que très peu de papillons de la G_0 (composée d'insectes ramassés aux derniers stades larvaires dans la nature) sont susceptibles de s'accoupler dans les conditions artificielles auxquelles ils sont soumis au laboratoire. En 1962, ce même auteur étudie l'influence de certains facteurs sur les accouplements et il observe que le conditionnement des adultes (température, alimentation, volume des cages utilisées) et la nourriture des larves peuvent agir sur leur nombre ; mais il ne peut malgré tout obtenir plus de 4 générations successives. Par ailleurs il constate que le nombre d'accouplements décroît progressivement d'une génération à l'autre. Il suppose que les croisements consanguins peuvent avoir un rôle mais il ne peut le mettre en évidence.

HARDWICK (1965) en élevant *H. zea* et *H. armigera* observe, à l'aide de plusieurs

(1) (2) Espèces très voisines, différenciées en 1953 par COMMON.

critères, le déclin progressif de la vigueur générale de ces deux espèces au cours des différentes générations successives. La longévité des adultes diminue, la mortalité des chenilles et l'hétérogénéité du développement s'accroissent, le nombre des accouplements décroît progressivement au fur et à mesure que les générations se succèdent. Chez *H. armigera* il n'obtient jamais plus de trois générations lorsque les insectes ont pour origine des populations continentales. Chaque fois qu'un élevage s'est maintenu pendant un nombre plus important de générations, il s'agissait d'insectes appartenant à des populations insulaires (8 générations). Cet auteur a effectué, pour chacune des deux espèces dont il réalisait un élevage, des croisements entre insectes de différentes populations continentales élevées depuis déjà plusieurs générations, donc affaiblies. Celles-ci provenaient de pays continentaux généralement très éloignés les uns des autres. Il résume ce qu'il a observé dans ces termes « *Lorsque deux populations de vigueur médiocre sont croisées, la F_1 se caractérise pour tous les stades par une grande vigueur et une haute viabilité; elle surpasse pour ces deux critères les individus de la génération précédente et correspondante des deux populations parentales. A la F_2, cependant, l'hétérosis a disparu presque totalement. Il semble que l'*outbreeding (*par rapport aux populations correspondantes en fait à des races ou écotypes*) *soit une première nécessité pour assurer chez les populations continentales le maintien de la vigueur et de leur nuisibilité.* »

D'un point de vue expérimental, HARDWICK, bien qu'il n'ait pas totalement établi la cause du déclin de la vigueur mis en évidence, suppose qu'il est dû en grande partie à un facteur d'ordre génétique. Il n'exclut pas pour autant le rôle éventuel de la nutrition ou de tous autres facteurs de l'environnement.

Du point de vue écologique HARDWICK pense que :

1° Lorsqu'il s'agit d'insectes appartenant à des populations continentales, les migrations, mettant en présence des individus de populations différentes, assurent l'intervention de l'hétérosis et par là même la survie de l'espèce.

2° Lorsqu'il s'agit d'insectes d'origine insulaire, la possibilité de se reproduire pendant un nombre relativement important de générations s'explique par la création de types naturels capables génétiquement de résister à un haut degré de consanguinité. Effectivement, le peuplement des îles s'opère à partir de très peu d'individus. Ces populations insulaires sont d'ailleurs moins vigoureuses et le nombre d'espèces végétales qui peuvent leur servir d'hôtes est plus réduit.

Les recherches de possibilités d'élevages permanents de noctuelles, conduites depuis un certain nombre d'années déjà, ont pris un nouvel essor lorsque l'on s'est aperçu qu'il était possible d'élever les chenilles en les nourrissant avec des aliments artificiels. Des résultats très intéressants ont été obtenus mais des limites généralement inexpliquées interdisent le plus souvent la poursuite de ces élevages au-delà d'un certain nombre de générations successives, ceci quelle que soit l'alimentation utilisée. Six espèces, *Peridroma saucia* HÜBNER, *Pseudoletia unipuncta* HAWORTH, *Heliothis phloxiphaga* G. et R. (SHOREY et HALE, 1965), *Prodenia litura* (MOORE et NAVON 1964), *Heliothis zea* BODDIE, (VANDERZANT *et al.*, 1962) *Trichoplusia ni* HÜBNER (IGNOFFO 1963 ; SHOREY, 1963), ont été ainsi élevées pendant plusieurs générations. Les nombres les plus importants de générations successives réalisés sont respectivement 12 et 6 pour *T. ni* et *P. litura*. Pour les autres espèces ce nombre varie de 3 à 4. Quelques remarques ont été faites par différents auteurs :

— SHOREY (1963) constate que *T. ni* se maintient pendant 12 générations sans aucun déclin de vigueur ; la viabilité des œufs reste normale.

— L'absence d'accouplements chez les adultes de *H. zea* a empêché d'évaluer l'effet d'une alimentation artificielle sur l'oviposition (VANDERZANT *et al.*, 1962).

— MOORE et NAVON (1964) n'ont obtenu aucune baisse de rendement (nombre d'adultes sur nombre de chenilles élevées) entre la première génération et la deuxième génération d'un élevage individuel de *P. litura*.

— SHOREY et HALE (1965) élèvent trois espèces de noctuelles (*P. saucia* HB., *H. phloxiphaga* G. et R., *P. unipuncta* HAW.) pendant plusieurs générations successives. Ils n'indiquent aucune diminution de la fertilité. Par contre, ils constatent l'apparition chez les adultes d'une certaine « docilité » qu'ils considèrent comme le résultat d'une adaptation de l'espèce au confinement auquel elle est soumise en élevage. SHOREY et HALE pensent que d'autres transformations, d'ordre physiologique par exemple, peuvent être liées à l'apparition d'un tel caractère et que l'utilisation des insectes d'élevage à d'autres fins expérimentales doit être envisagée avec méfiance. Dans cette éventualité l'introduction de génotypes sauvages à chaque génération s'avérerait nécessaire.

Pour les autres espèces, dont l'élevage a été poursuivi pendant plusieurs cycles évolutifs (de l'œuf à l'adulte), le nombre de générations est simplement indiqué sans autres observations.

Enfin, SNOW et CALLAHAN (1967), étudient le nombre d'accouplements chez les adultes de *H. zea* en fonction des facteurs « cage » et « présence de plante-hôte ». Bien qu'ils observent dans certaines conditions une augmentation importante du nombre des accouplements, l'élevage ne peut être poursuivi au-delà de cinq générations.

Cette perte de vigueur, remarquée au cours de l'élevage de différentes espèces de *Noctuidae*, a fait l'objet de suppositions mais à notre connaissance aucune explication pleinement satisfaisante n'a été donnée. HARDWICK (1965) le premier, a observé que l'hétérozygotie pouvait être à l'origine d'une réapparition de la vigueur chez des populations de *H. zea* et *H. armigera* en élevage.

KAMANO et FUKAYA (1965), par contre, ont obtenu des résultats plus précis en élevant sur milieu artificiel aseptique le Lépidoptère *Pyralidae Chilo suppressalis ;* 3 ou 10 générations sont réalisées suivant la méthode de croisement génétique utilisée lors de l'accouplement des adultes : 3 lorsqu'il s'agit du croisement en *inbreeding*, 10 pour un type de croisement appelé *rotational breeding*, ce dernier étant le moins consanguin des deux. TAMAKI (1966), lors de l'élevage du Lépidoptère *Tortricidae Adoxophyes orana* FISCHER, aboutit à des conclusions identiques.

Nous avons voulu, dans notre travail, essayer d'estimer l'importance du facteur génétique et, plus particulièrement de la consanguinité, dans le potentiel de reproduction des *Noctuidae* maintenus en élevage au laboratoire. Ceci sans perdre de vue que d'autres facteurs pouvaient intervenir, notamment ceux qui agissent directement sur la physiologie de l'insecte ; ceux-ci peuvent d'ailleurs agir seuls ou en interaction avec le facteur génétique.

I. — MÉTHODES DE TRAVAIL

1. *Définition de quelques notions*

Les insectes dont l'élevage est réalisé sont très souvent les descendants d'adultes capturés au piège lumineux. Parfois ce sont des chenilles ramassées dans la nature au dernier stade qui nous servent de point de départ. Dans les deux cas les insectes sont issus de la population naturelle et sont nommés insectes *sauvages*.

Ces adultes sont mis en élevage par couples séparés. Nous appellerons *lignée* la descendance de chacun d'eux.

Souvent, les insectes élevés n'appartiennent qu'à une seule lignée. Beaucoup plus rarement ils peuvent appartenir à plusieurs mais le nombre en est toujours restreint. Au cours des générations (1) successives, selon la conduite d'élevage utilisée, il peut être réalisé soit des croisements hautement consanguins, soit des croisements de consanguinité réduite.

Différents critères, ayant tous trait à la vigueur générale des insectes, sont relevés dans ces élevages. Ils concernent la fertilité, la fécondité, le rendement de l'élevage, la durée du développement total, les adultes malformés. *La fertilité* est représentée par le pourcentage de couples ayant pondu des œufs viables (œufs donnant naissance à de jeunes chenilles) par rapport à la totalité des couples formés ; ce pourcentage correspond aux taux d'accouplement puisque dans la plupart des cas les œufs non viables sont pondus par des femelles non accouplées (absence de spermatophores).

La *fécondité* est donnée par le nombre d'œufs pondus en moyenne par femelle ou par jour de vie femelle.

Le *rendement de l'élevage* est le nombre d'adultes obtenu pour 100 chenilles mises en élevage.

La *durée moyenne de développement total* représente le temps moyen qui s'écoule entre la mise en élevage des chenilles et l'éclosion des adultes. Les imagos malformés sont indiqués en pourcentage par rapport au nombre total d'adultes.

Il aurait été fastidieux de mentionner toutes ces données pour chacun des élevages réalisés ; comme le maintien des espèces en élevage dépend principalement de la fertilité des adultes, c'est ce critère que nous mentionnerons de préférence au cours de notre exposé.

2. *Description succincte des conditions d'élevage*

Les détails techniques des élevages ne seront pas abordés ; ils feront l'objet d'une publication ultérieure (notamment en ce qui concerne l'alimentation artificielle des chenilles).

L'élevage des chenilles a généralement lieu dans une salle climatisée dont les conditions sont constantes (température 25°, humidité relative 60 p. 100, photopériode longue 18/6). Si, dans notre exposé, les résultats d'élevages réalisés dans des conditions particulières sont mentionnés, ces dernières seront précisées.

Les adultes, à leur éclosion, sont placés par couple dans des cages (boîte en matière plastique) de 5 cm de hauteur et 80 mm de diamètre, dont le couvercle a été percé puis grillagé. Un récipient de dimensions réduites (20 mm × 20 mm × 10 mm) contenant une solution aqueuse de miel à 30 p. 100 est introduit dans chaque cage. Le couvercle de cet « abreuvoir » présente un orifice de quelques mm^2 au travers duquel les papillons aspirent la solution sucrée. La ponte a lieu sur les parois de la cage ou sur du papier-filtre dont nous tapissons les parois lorsque nous voulons récupérer les pontes.

Il est indispensable d'utiliser pour les adultes la méthode d'élevage que nous venons de décrire. Il est très difficile, en effet, d'obtenir un assez grand nombre de pontes fertiles si nous groupons les adultes dans une seule cage. Par ailleurs pour déterminer exactement la proportion des femelles fertiles il est indispensable d'élever chaque couple isolément.

II. — RÉSULTATS D'ENSEMBLE

1. *Sur alimentation artificielle*

Au cours d'une première génération, la plupart des espèces élevées (17/18) (voir tabl. 1) s'accommodent parfaitement bien de l'alimentation artificielle. Pour

(1) Cycle évolutif complet de l'adulte à l'adulte.

un seul cas les résultats ne sont pas satisfaisants, mais l'échec est relatif et laisse supposer qu'une meilleure présentation du milieu, de légères modifications de celui-ci, ou plus de soins dans la conduite des élevages aboutiront à des améliorations notables.

TABLEAU I

Espèces de Noctuelles dont les chenilles ont été élevées au laboratoire de Montfavet sur alimentation artificielle
(Les espèces dont l'élevage a été poursuivi pendant plusieurs générations sont élevées en conditions de consanguinité)

Espèces dont l'élevage a été tenté pendant une seule génération		Espèces dont l'élevage a été poursuivi pendant plusieurs générations	Nombre de générations réalisées
sans succès	avec succès		
Chloridea viriplaca HFN	*Scotia exclamationis* L.	*Scotia segetum* SCHIFF	3
	Noctua Pronuba L.	*Scotia ipsilon* HFN	4
	Phlogophora meticulosa L.	*Peridroma saucia* HB.	3
	Chloridea peltigera SCHIFF	*Amathes c. nigrum* L.	5
	Chrysodeixis chalcites ESP.	*Mamestra brassicae* L.	2
	Macdunnoughia confusa STEPH.	*Mamestra oleracea* L.	2
	Pseudoletia unipuncta HAWORTH	*Spodoptera exigua* HB.	2
		Helicoverpa armigera HB.	3
		Autographa gamma HB.	3
		Trichoplusia ni HB.	4

Au fur et à mesure que les générations se succèdent, on assiste, presque toujours, à une diminution de la vitalité des insectes. Celle-ci se traduit surtout par la diminution du nombre d'œufs viables qui est due, dans les cas où nous l'avons vérifié, à

TABLEAU 2

Perte de vigueur au cours d'un élevage de Amathes c. nigrum *L. réalisé en conditions de consanguinité*

	Mortalité larvaire en pourcentage	Rendement en adultes	Pourcentage d'adultes déformés	Nbre d'œufs pondus par jour de vie femelle	Pourcentage de couples fertiles	Pourcentage d'œufs fertiles
G_1	12,5	66,6	2	38	42,8	36,4
G_2	37,5	59,1	2,8	24	20,6	18
G_3	27	56,6	28	28	19,2	27,9
G_4	42	54	14,2	23,8	4	6,3
G_5	79,5	15,9	27	23,4	0	0

l'absence d'accouplement chez les adultes (pas de spermatophore chez les femelles de *Amathes c. nigrum* et *Helicoverpa armigera* qui pondent des œufs stériles). Corrélativement, il apparaît une diminution de la fécondité et une augmentation de la mortalité larvaire. Par ailleurs, la durée moyenne du développement total augmente

légèrement et le nombre des adultes malformés s'accroît. Un exemple de cette perte de vigueur est donné dans le tableau 2. Il concerne l'élevage de *A. c. nigrum* pendant 5 générations.

Chez une espèce (*H. armigera*) un caractère particulier apparaît parfois, en même temps que ceux déjà cités ; certains individus sont si décolorés qu'il est difficile de distinguer parmi eux les mâles des femelles (cette opération est habituellement facile grâce à la coloration très différente des deux sexes).

Dix espèces ont fait l'objet d'un élevage pendant plusieurs générations successives. Aucun élevage n'a pu être poursuivi au-delà de cinq générations.

2. *Sur alimentation naturelle*

Pour *Peridroma saucia* sur alimentation naturelle (salade), des résultats comparables à ceux de la même espèce sur alimentation artificielle ont été obtenus : la souche d'insectes en élevage est totalement décimée au bout de trois générations. Un autre élevage, réalisé sur la même alimentation mais à 20°, a abouti à un résultat identique.

A. c. nigrum a été élevée sur alimentation naturelle (salade) en première génération puis sur aliment artificiel en seconde génération. Les taux d'accouplement sont respectivement de 88,2 p. 100 et 42,8 p. 100. Pour un autre élevage d'insectes de la même espèce ayant débuté directement sur milieu, une fertilité respective de 76 p. 100 et 25 p. 100 pour deux premières générations a été obtenue. Nous remarquerons que, quelle que soit l'alimentation utilisée en première génération, il se produit une diminution de la vigueur générale.

H. armigera a montré une perte de vigueur tout à fait semblable pour les deux nourritures, artificielle ou naturelle (haricot vert), utilisées.

Enfin, nous avons constaté qu'il est impossible de pallier la perte de vitalité acquise sur alimentation artificielle par le simple retour à une alimentation naturelle.

3. *Discussion*

Les résultats généraux obtenus sur les deux alimentations, ne permettent pas d'exclure avec certitude l'action du facteur « alimentation » dans la perte de vigueur. On peut supposer que le milieu artificiel est carencé ou toxique du fait de l'absence ou de la présence de certains éléments.

L'alimentation naturelle, considérée normalement comme la meilleure peut, elle aussi, présenter certains défauts du fait des conditions artificielles auxquelles sont exposés les insectes. Le végétal perd rapidement l'état de fraîcheur qui lui est indispensable. Par ailleurs, le choix exercé habituellement par l'insecte, de l'alimentation qui lui convient, ne peut plus avoir lieu. Les effets physiologiques de l'alimentation sont en outre complexes ; ils peuvent être le résultat d'interactions avec d'autres facteurs (température, photopériode) ainsi que R. Cayrol (1962) l'a montré pour *Autographa gamma* L. Les conditions des élevages étant constantes il faudrait que l'alimentation le soit également, ce qui est impossible car l'une des caractéristiques de l'alimentation naturelle est justement d'être de qualité constamment variable.

Toutefois les élevages relativement nombreux réalisés, et les résultats d'ensemble

obtenus, nous incitent à examiner l'action de facteurs autres que l'alimentation sur le déclin de la vigueur des insectes en élevage.

Les résultats de travaux sur *H. armigera* HB. surtout, mais aussi sur d'autres espèces (*A. c. nigrum, Spodoptera exigua* HB.), vont nous permettre de mettre en évidence l'influence fondamentale des facteurs génétiques sur le maintien ou la perte de vigueur des lignées.

III. — TRAVAUX RÉALISÉS SUR HELICOVERPA (HELIOTHIS) ARMIGERA HBN.

1. *Biologie succincte*

Il est nécessaire d'indiquer les principaux caractères de la biologie de cette espèce pour une meilleure compréhension du travail réalisé.

H. armigera est une espèce assez cosmopolite, nuisible (sur Maïs, Coton, Tomate principalement) dans des zones équatoriales, tropicales et méditerranéennes. Les larves attaquent de préférence les organes en voie de développement (fleurs, fruits, graines). Les adultes peuvent migrer. L'espèce est représentée essentiellement par deux sous-espèces qui peuvent elles-mêmes être divisées en populations étant donné les variations qui, d'un lieu à l'autre, affectent souvent les caractères écologiques des insectes.

Tous les travaux que nous avons réalisés sur *H. armigera* ont été effectués sur la population de la Basse Vallée du Rhône.

2. *Influence des interactions température, photopériode, alimentation sur la vigueur des insectes*

Nous avons envisagé d'étudier des insectes exposés à des conditions constamment variables (auxquelles sont généralement exposés les insectes dans la nature) comparativement à ceux exposés à des conditions constantes (auxquelles ils sont soumis en élevage).

Les insectes utilisés appartiennent à cinq lignées. Chacune d'elles a fait l'objet d'un élevage séparé et représente une répétition. A la première génération de l'expérience considérée, les chenilles de chacune des lignées sont séparées en deux lots, l'un placé dans les conditions constantes du laboratoire (salle d'élevage), l'autre placé dans les conditions variables semi-naturelles (abri-insectarium).

Les insectes de chacun des lots sont répartis sur trois alimentations différentes ; ceci afin d'éviter les effets néfastes possibles d'une alimentation constante sur un insecte normalement polyphage au cours, soit d'une génération (MERZHEEVSKAYA, 1963), soit des générations successives.

Dès la seconde génération, les lots sous insectarium sont placés en salle d'élevage, sauf un qui y séjournera deux générations consécutives.

Une même diminution de vigueur est observée chez les insectes de différentes lignées et pour chacun des lots d'insectes. Les insectes soumis aux conditions variables de milieu (abri-insectarium) et ceux ayant effectué toutes leurs générations successives

en salle d'élevage (conditions constantes) ont accusé une perte de vitalité semblable. Pour aucun des lots il n'a été possible de réaliser plus de trois générations. *Que les conditions d'alimentation, température, photopériode soient variables ou non les différentes lignées présentent la même diminution rapide de vigueur.*

3. *Influence de facteurs génétiques* (1)

Cette étude a nécessité l'accumulation de nombreuses données recueillies au cours d'un grand nombre d'élevages qui ont été poursuivis jusqu'à disparition par manque de vigueur des lignées. Un compte rendu détaillé de ces expériences sera fait dans une communication ultérieure. Pour l'instant, nous ne ferons mention que des principaux résultats obtenus.

a) *Fertilité des insectes « sauvages ».*

La fertilité des insectes récoltés au dernier stade larvaire de juillet à septembre est comprise entre 50 et 60 p. 100 (59,6 en 1965, 56 en 1966). Nous considérons qu'elle représente la fertilité des insectes de vigueur normale.

b) *Étude des générations successives de lignées prélevées dans la nature.*

Quatre lignées ont pu être suivies en élevage pendant trois générations.

Lors de la première génération, le taux d'accouplement des adultes est souvent moindre que celui des insectes sauvages de la génération précédente (G_0). Il peut être d'ailleurs très variable (de 0 à 50 p. 100 selon les lignées étudiées) (2). Ceci prouve une importante hétérogénéité des potentialités biotiques dès le départ entre les différentes descendances choisies.

A la seconde génération, ce taux diminue (généralement de moitié), pour devenir très faible et parfois nul à la troisième génération d'élevage.

A titre d'exemple, voici les taux d'accouplement obtenus pour une des lignées considérées au cours des trois générations : G_1 48 p. 100, G_2 20 p. 100, G_3 0 p. 100.

c) *Étude de la F_1 issue du croisement d'individus appartenant à des lignées en élevage depuis plusieurs générations* (vigueur faible) *avec des insectes sauvages* (vigueur élevée).

Six expériences ont été ainsi conduites. Quelles que soient les lignées, le quantième de la génération et le sexe des papillons sauvages, il s'en suit une importante régénérescence de la vigueur générale de l'espèce en F_1 (comparativement avec celle des générations précédentes et correspondantes de la lignée en élevage). Le taux d'accouplement peut même redevenir aussi élevé qu'il l'est normalement dans la population naturelle d'origine (aux environs de 55 p. 100).

d) *Étude de la F_1 issue du croisement de deux lignées en élevage.*

La vigueur des insectes appartenant aux deux lignées est respectivement moyenne ou faible selon le nombre de générations écoulées au moment de l'expérience. Quatre essais furent réalisés suivant cette méthode.

Quelle que soit la vigueur des lignées parentales, on note en F_1 une amélioration très importante de la vigueur de l'espèce. On constate une nouvelle fois que la fertilité

(1) Nous rappelons qu'il s'agit d'insectes exposés aux conditions suivantes : larves : 25°, photopériode longue (16/8) ; chrysalides : 25° ; adultes et pontes : 20°, lumière naturelle ; chenilles sur alimentation artificielle.

(2) Parmi les quatre lignées citées toutes ont eu 3 générations, donc toutes ont eu un taux d'accouplement suffisamment élevé en première génération.

peut redevenir normale après un tel croisement. La régénérescence existe donc, indépendamment de la vitalité des lignées auxquelles appartiennent les mâles et les femelles.

e) *Étude des générations successives* ($F_2 \cdot \cdot \cdot F_n$) *issues des deux croisements précédents.*

En nous référant uniquement à la fertilité, nous avons observé chez les insectes F_1 une vigueur légèrement inférieure ou identique à celle des insectes « sauvages ».Cette vigueur disparaît au cours des générations d'une façon tout à fait semblable à celle d'une lignée issue de la nature. Le taux d'accouplement est généralement nul au bout de 3 générations.

Pour une seule lignée, nous avons obtenu exceptionnellement 6 générations après le croisement, mais le taux d'accouplement était très faible (5 p. 100) dès la seconde génération et il est demeuré faible (aux environs de 6 p. 100) pour les autres générations.

Nous avons constaté que la régénérescence de la vigueur avait lieu, en F_1, quelles que soient les lignées auxquelles appartiennent les mâles et les femelles. Toutefois, il semble que les insectes de la F_1 et leurs descendants aient une vigueur plus grande et plus durable lorsque le mâle provient de la lignée la plus vigoureuse.

Remarque : Toutes les expériences mentionnées jusqu'à présent ont été faites à une époque où nous avions recours à une méthode *classique* n'impliquant aucune des précautions particulières que nous avons été amené à prendre par la suite, au moment de la formation des couples.

f) *Obtention d'un nombre important de générations à fertilité moyenne constante.*

La *souche* de laboratoire, utilisée pour cet élevage, comprend les insectes appartenant à deux lignées (l_1, l_2). Les insectes de chacune d'elles sont élevés séparément pendant une génération, puis les adultes de l'une sont accouplés avec ceux de l'autre. La descendance de ce croisement interlignées représente les insectes de la première génération (G_1) d'élevage. Au cours des générations successives ($G_1 \cdot \cdot \cdot \cdot G_n$) aucun croisement, soit avec des insectes provenant d'autres lignées, soit avec des insectes « sauvages », ne seront effectués. Les descendances de quatre couples sont choisies pour constituer la G_1. Chacune d'elles est élevée isolément. Les adultes G_1 sont accouplés de façon que mâles et femelles en présence appartiennent systématiquement à des descendances différentes.

A chaque génération un nombre variable, mais toujours relativement important, de descendances de divers couples sont élevées séparément. Les adultes sont accouplés comme nous venons de l'expliquer pour la G_1, c'est-à-dire *de façon que mâle et femelle d'un même couple ne soient jamais issus d'une même descendance. On évite ainsi systématiquement les accouplements « frère-sœur ». Cette façon de procéder a permis de réaliser 14 générations* (fig. 1) après le croisement interlignées de départ. Le taux d'accouplement s'est situé autour de 30 p. 100 de la G_{10} à la G_{14} alors qu'il était de 26 p. 100 à la G_1. La vigueur générale est par ailleurs restée bonne ; la population larvaire montre un développement homogène et une mortalité assez faible.

En même temps, des insectes appartenant à chacune des deux lignées d'origine ont été élevés selon la méthode classique ; il n'a été possible de réaliser que 3 générations pour la l_1 et 4 générations pour la l_2.

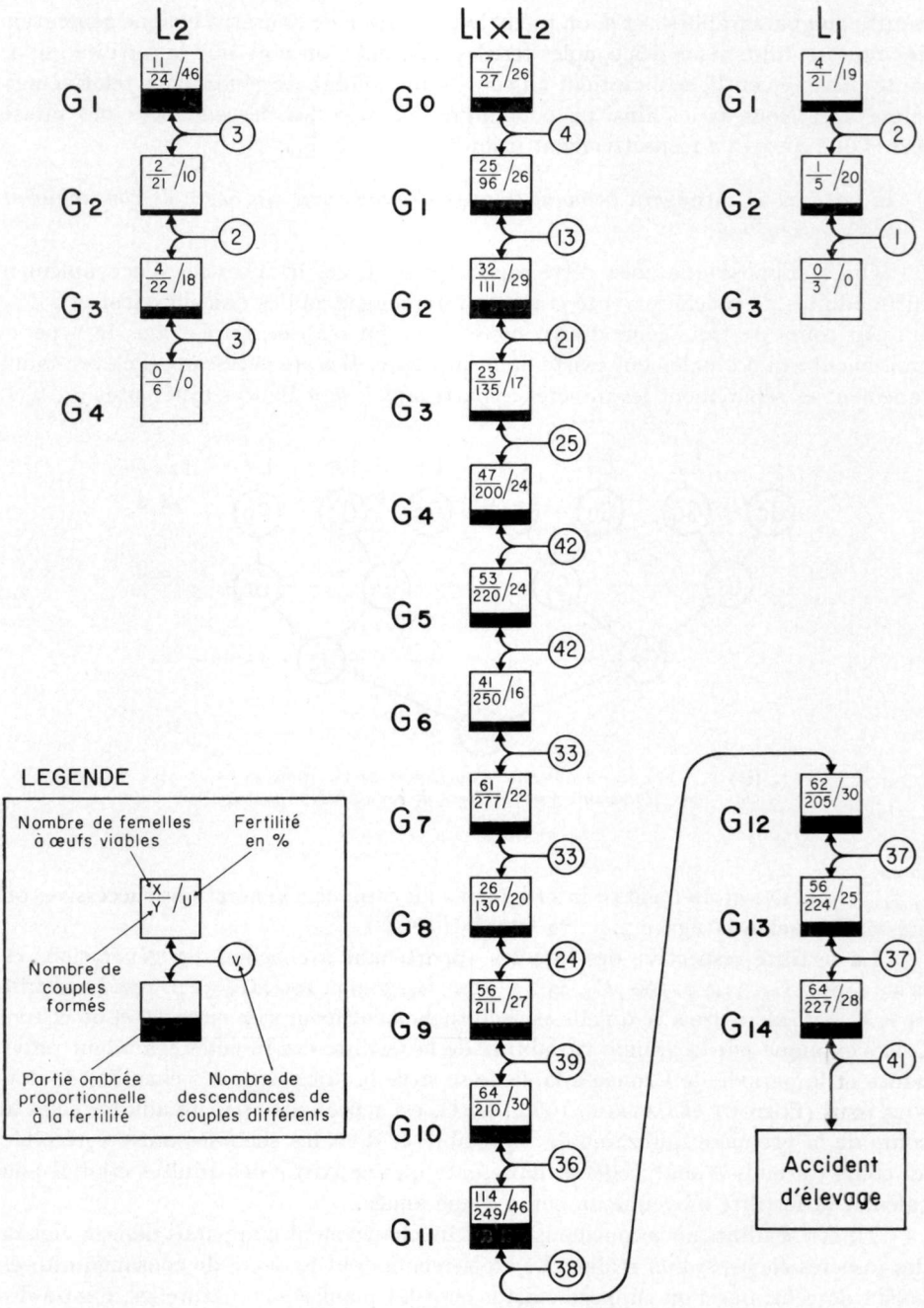


FIG. 1. — *Conduite d'un élevage de* H. armigera
ayant permis d'obtenir un nombre relativement important de générations successives
La fertilité des insectes est demeurée à un niveau moyen mais constant au cours des générations

De même, si au cours des élevages d'insectes F_1, F_2, F_3, F_n issus des croisements décrits aux paragraphes *c* et *d*, on prend la précaution de croiser, à chaque génération, des représentants issus des couples fertiles différents, on note que la fertilité importante observée en F_1 se maintient au cours d'un nombre de générations relativement important. Nous avons ainsi pu poursuivre l'élevage des descendances des croisements de type *c* et *d* respectivement jusqu'à la F_9 et la F_{10}.

g) *Élevage de* H. armigera *pendant trois générations avec un degré de consanguinité pratiquement nul.*

On a supposé que chez cette espèce (migratrice) les chances d'accouplement entre adultes de proche parenté étaient pratiquement nulles dans la nature.

Au cours de trois générations, nous avons pu réaliser, en élevage, le type de croisement qui normalement existe dans la nature. Il a été nécessaire d'élever simultanément et séparément les insectes appartenant à sept lignées différentes (l_1, l_2, l_3, l_4, l_5, l_6, l_7). Les croisements « interlignées » au cours des générations successives ont été réalisés selon la figure 2.

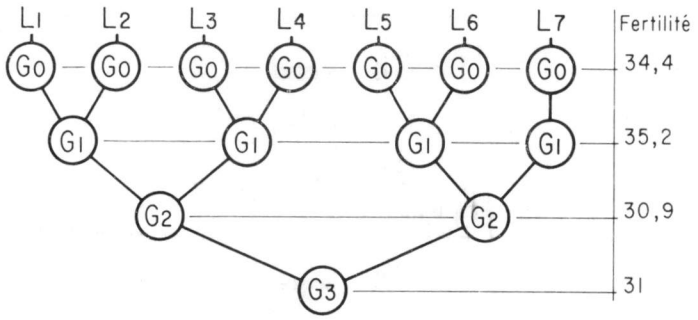


FIG. 2. — *Conduite d'un élevage de* H. armigera *pendant trois générations avec un degré de consanguinité pratiquement nul*

La fertilité respective des insectes appartenant à chacune des générations est la suivante : G_0, 34,4 p. 100 ; G_1, 35,2 p. 100 ; G_2, 30,9 p. 100 ; G_3, 31 p. 100. La fertilité de la G_0 est inférieure à ce qu'elle est habituellement (comprise entre 50 et 60 p. 100). Cela s'explique par la grande variabilité de la fertilité des insectes selon leur provenance et la période de l'année à laquelle se situe le ramassage des chenilles dont ils sont issus (POITOUT et CAYROL, 1969). La G_0 est représentée par les adultes éclos au cours de la première quinzaine de septembre et dont les chenilles ont été récoltées au cours du mois d'août ; elle ne représente qu'une partie des adultes étudiés pour calculer la fertilité moyenne au cours d'une année.

De ces résultats nous concluons qu'aucun changement n'apparaît dans la vigueur des insectes élevés si l'on réalise des croisements dont le degré de consanguinité est voisin de celui que l'on suppose exister chez les populations naturelles, c'est-à-dire pratiquement nul.

Chez cette espèce, il semble donc que l'on puisse attribuer le déclin de la vigueur des insectes en élevage en grande partie à un facteur d'ordre génétique.

IV. — TRAVAUX RÉALISÉS SUR D'AUTRES NOCTUELLES

Les résultats obtenus sur *H. armigera* nous ont incité à réaliser des élevages de *Amathes c. nigrum* et *Spodoptera exigua* en nous inspirant du même principe (réduction du degré de consanguinité). Rappelons que, pour ces deux espèces, nous n'avions pu obtenir sans précaution particulière, respectivement que 5 et 2 générations.

1. *Élevage de* Amathes c. nigrum

Les insectes placés en élevage appartiennent à différentes lignées. Les larves sont séparées en deux lots ; l'un est élevé sur milieu, l'autre sur végétal (1). L'alimentation naturelle doit, pour être satisfaisante, conserver un bon état de fraîcheur ; de plus, les deux lots doivent être situés dans les mêmes conditions pour que les résultats obtenus soient comparables. Pour ces deux raisons la température de 20° est choisie pour l'un et l'autre.

A chaque génération 50 couples sont formés. Les œufs viables des différents couples sont prélevés tous les deux jours. Les pontes, relevées à une même date, sont regroupées dans une seule boîte. Les premières pontes prélevées sont placées à 11° pour ralentir le développement de l'embryon ; lorsque les œufs viables ont été prélevés chez un nombre relativement important de couples toutes les pontes sont placées à 25°. Une éclosion suffisamment groupée des œufs est alors obtenue pour permettre de prélever des chenilles qui sont les progénitures des différents couples et non d'un seul. Ainsi, la descendance perpétuant l'élevage est représentative de la population globale d'insectes élevés.

TABLEAU 3

Comparaison de la fertilité
(pourcentage de femelles ayant pondu des œufs viables)
pour deux élevages de Amathes c. nigrum *L.,*
l'un sur milieu artificiel, l'autre sur végétal ; les deux menés en consanguinité réduite
(accouplements entre cousins)

	Végétal	Milieu
G_1	76	76
G_2	33,3	25
G_3	47	23,5
G_4	34	60
G_5	52	40
G_6	52	58
G_7	34	40
G_8	7,1	63,3
G_9	0	50
G_{10}		40,8

(1) En utilisant comme alimentation le Pissenlit (*Taraxacum dens leonis*) de mars à décembre et le Plantain (*Plantago lanceolata*) de décembre à mars le végétal peut être constamment trouvé dans la nature.

Pour former 50 couples, 200 chenilles au moins sont élevées à chaque génération. Il est évident, si l'on considère que les chenilles mises en élevage sont prélevées au hasard parmi les progénitures de différents couples, que les chances d'accouplement entre frères et sœurs sont inversement proportionnelles au nombre de descendances pour lesquelles les œufs ont été mis à éclore. Cette relation n'est en réalité qu'approximative. D'un couple à l'autre la variabilité, d'une part du nombre d'œufs déposés, d'autre part de la vigueur des chenilles, fait que chacune des descendances ne se trouve pas être représentée dans la population totale par un nombre égal d'adultes.

L'élevage ainsi conduit a permis d'obtenir jusqu'à ce jour 10 générations sur milieu ; 9 générations seulement ont pu être réalisées sur alimentation naturelle. Entre la première et la seconde génération la fertilité tombe de moitié. Ensuite, elle se stabilise, augmente même parfois, mais jamais au point de redevenir ce qu'elle était initialement (76 p. 100). Nous n'observons pas, en première approximation, qu'une différence de vigueur due aux effets de l'alimentation existe d'un lot à l'autre (tabl. 3.)

2. *Élevage de* Spodoptera exigua

Nous avons réalisé pour cette espèce les conditions génétiques qui, vraisemblablement, ont été favorables à *Helicoverpa armigera* et *Amathes c. nigrum*. Pour éviter que ne soient réalisés des croisements consanguins « frère-sœur », l'élevage a été conduit de la façon suivante pour chacune des générations.

Les descendances de 16 couples (non frère-sœur) sont élevées séparément. Chacune d'elles comprend 10 chenilles soit au total, pour une génération, 160 chenilles. Lorsque les insectes parviennent au stade imaginal, nous gardons 40 mâles et 40 femelles. Ceux-ci sont répartis par couples isolés, de telle sorte que, d'une part, femelle et mâle appariés n'appartiennent pas à la même descendance, d'autre part, que les 16 descendances soient à peu près également représentées. Les descendances qui sont choisies pour assurer la génération suivante diffèrent les unes des autres au moins par l'un de leur parent sinon par les deux (avec 16 descendances le nombre possible de croisements entre insectes appartenant à des descendances différentes serait $16 \times 16 = 256 - 16 = 240$).

La pratique des élevages empêche de suivre raisonnablement 240 couples et d'utiliser leur descendance rationnellement. Un choix s'impose donc ; celui qui correspond au plus haut degré d'hétérozygotie consiste, plutôt que de diminuer le nombre de couples d'origine, à garder ce nombre 16, puis à effectuer un choix de 40 couples comme nous l'avons indiqué.

Nous sommes actuellement à la 28^{e} génération de *S. exigua* ; la fertilité a toujours été élevée (de l'ordre de 50 à 80 p. 100) ; la chute rapide des possibilités d'accouplement enregistrée entre la première génération et la deuxième génération pour les deux autres espèces n'a pas été observée lors de cet élevage.

V. — DISCUSSION DU CAS PARTICULIER PRÉSENTÉ PAR H. ARMIGERA

1. *La notion de population*

Les insectes dont nous étudions la descendance sont, nous le rappelons, capturés au stade imaginal ou récoltés au stade larvaire dans la seule région d'Avignon. *H. armigera* étant une espèce migrante, on peut se demander si ces adultes et ces chenilles appartiennent uniquement à la population du Bas-Rhône ou si, éventuellement, elles peuvent appartenir à des populations différentes au sens où l'entend HARDWICK. Les connaissances sur les migrations de cette espèce sont insuffisantes pour nous permettre de répondre à cette question. D'ailleurs, dans la mesure où elle se pose pour la population du Bas-Rhône, elle se pose pour les différentes populations utilisées par HARDWICK. Nous considérons donc que les insectes que nous avons utilisés appartenaient à une population unique, celle du Bas-Rhône.

2. *Comparaison des travaux homologues effectués par* HARDWICK *et par nous-mêmes*

a) *Insectes utilisés.*

Il convient de souligner, tout d'abord, la différence qui existe entre les insectes utilisés par HARDWICK et par nous-mêmes. Pour HARDWICK, l'*inbreeding* et l'*outbreeding* se situent par rapport à des populations provenant de régions du globe très éloignées les unes des autres. Dans nos expériences, ces deux termes se situent par rapport à des lignées appartenant toutes à la même population.

b) *Résultats obtenus.*

HARDWICK, au cours de l'unique expérience réalisée sur *H. armigera*, a mis en présence des insectes appartenant respectivement à la première génération de la population Tikem Tchad et à la sixième génération de la population Suva-Fidji. En F_1, chenilles et adultes sont d'une vigueur remarquable, nettement supérieure à celle des insectes de leur génération qui appartiennent à l'une ou l'autre des populations parentales et supérieures également à celle de leurs parents.

Dans les croisements que nous avons réalisés, les insectes appartenaient éventuellement à des lignées élevées depuis plusieurs générations, donc affaiblies. Quoi qu'il en soit, nous avons observé en F_1 un gain de vitalité. Celui-ci, toutefois, semble admettre une valeur limite qui est atteinte généralement lorsque la fertilité des adultes hybrides avoisine celle des insectes récoltés dans la nature et maintenus captifs au laboratoire (taux de femelles fertiles de l'ordre de 50 à 60 p. 100).

En somme, les insectes de première génération de souches parentales (insectes qui, n'ayant pas subi les effets de l'*inbreeding*, n'ont pas encore dégénéré) ont, dans l'expérience d'HARDWICK une vigueur inférieure à celle des F_1 alors que dans nos expériences ils ont une vigueur égale ou supérieure à celle de ces derniers.

Dans l'expérience d'HARDWICK, la vigueur des insectes de la F_1 à la F_2 diminue au point que le taux de fertilité qui était de 75 p. 100 en F_1 passe à 17 p. 100 en F_2

(par suite, le nombre de couples en F_3 sera insuffisant pour mener à bien un essai d'accouplement). Dans les expériences correspondantes faites à Montfavet, les résultats obtenus diffèrent du fait que la diminution de vigueur de la F_1 à la F_2 paraît toujours moins importante que celle constatée par HARDWICK, mais le résultat final est semblable ; en F_3 les insectes deviennent, la plupart du temps, incapables de s'accoupler.

Les phénomènes qui se manifestent d'une part dans l'expérience d'HARDWICK, d'autre part dans nos expériences sont, semble-t-il, de même nature mais d'identité différente. On ne saurait toutefois évoquer l'intervention d'un cas d'hétérosis patent qu'à propos de celui décrit par l'auteur canadien. Dans nos expériences, en effet, la diminution de vigueur de la F_1 à la F_2 est voisine généralement de celle qui se manifeste de la première à la deuxième génération d'une lignée maintenue en laboratoire suivant une méthode d'élevage classique. Soulignons d'ailleurs à ce sujet que, dans les expériences correspondantes dont nous avons fait état, c'est cette méthode d'élevage qui a été utilisée, donc que dans les deux cas, les insectes F_1, F_2, F_3 éventuellement, ont toujours été appariés au hasard des circonstances.

Le phénomène d'hétérosis décrit par HARDWICK sur *H. armigera* a été observé par différents auteurs sur plusieurs espèces de Lépidoptères lors du croisement de deux races ou écotypes : ARBUTHNOT (1944) sur *Ostrinia nubilalis*, DANILEVSKII (1961) sur *Acronycta rumicis*.

3. *Réflexions sur la conduite des élevages*

Quels que soient les caractères génétiques et la vigueur des insectes à l'origine d'un élevage (représentants d'une souche, produit du croisement de deux lignées ou de deux souches) il semble impossible, en suivant une méthode classique, de maintenir en laboratoire plus de 3 générations successives de *H. armigera*. L'espèce étant comme nous l'avons montré, très sensible à l'effet de la consanguinité, c'est celui-ci qui à notre avis doit intervenir en temps que facteur limitant essentiel. D'ailleurs les conditions facilitant son introduction dans nos élevages sont fréquemment réalisées. Elles le sont déjà souvent, avant même d'entreprendre les élevages, au moment de la récolte des insectes dans la nature. L'espèce est rare à certaines époques de l'année, l'apparition des papillons, les accouplements et les pontes sont échelonnées. Il est difficile, ainsi, d'avoir des éclosions simultanées d'œufs viables issus de différents couples.

Par ailleurs, pour simplifier au maximum la conduite d'un élevage, on a tendance généralement à choisir de jeunes chenilles ayant éclos le même jour et qui appartiennent de ce fait à un nombre très restreint de couples, ou même qui, souvent, sont issues de la ponte fertile la plus abondante. Il s'ensuit très rapidement un taux de croisement « frères × sœurs » très élevé. Or nous avons montré que l'élevage de 14 générations successives de *H. armigera* est possible même si les insectes de la souche élevée ne proviennent que de deux lignées différentes. Nous avons vu que, pour cela, à chaque génération les progénitures appartenant à un nombre relativement important de couples différents devaient être gardées. L'élevage de chacune d'elles est fait séparément et l'accouplement des adultes est réalisé de façon que mâles et femelles d'un même couple ne soient pas apparentés au degré frère-sœur. Cette façon de pro-

4° Parmi les dix espèces pour lesquelles nous nous sommes efforcés de réaliser le plus grand nombre possible de générations successives sur milieu artificiel, l'influence néfaste de la consanguinité n'a été clairement montrée que pour les trois espèces mentionnées ci-dessus. L'extrapolation de cette cause du déclin de vigueur aux autres espèces (1) de *Noctuidae* serait prématurée. En l'absence de toute expérimentation, on peut supposer, en effet, que la consanguinité stricte n'a pas des effets aussi défavorables pour toutes les espèces et que certains facteurs physiologiques peuvent alors devenir prépondérants.

Pour certaines espèces, l'élevage des adultes est conduit de façon telle que la consanguinité stricte est involontairement évitée : c'est le cas notamment lorsque de nombreux adultes peuvent être placés dans une même cage (cette méthode peut être inefficace chez des espèces à taux d'accouplement faible comme *H. armigera*). Par contre, l'isolement des couples (méthode que nous utilisons) tend à le faire apparaître lorsque l'expérimentateur ne prend pas certaines précautions.

Il est certain aussi que, selon l'espèce en élevage, il est plus ou moins facile de remédier aux accouplements frère-sœur ; de ce fait certaines espèces sont plus sujettes que d'autres à une telle dégénérescence. Les adultes de *S. exigua*, par exemple, s'accouplent facilement en captivité et dans un délai très court après leur sortie ; une grande partie des pontes sont déposées rapidement par les femelles ; il s'ensuit une éclosion groupée des œufs et la possibilité de prendre la descendance d'un grand nombre de couples pour assurer la génération suivante. Ce n'est pas le cas chez *A. c. nigrum* et encore moins chez *H. armigera*.

Il faut considérer aussi que l'importance de la population naturelle de départ (elle-même sous la dépendance de la facilité avec laquelle on peut se procurer l'espèce), et la simplicité de la technique d'élevage pour l'espèce considérée (celle-ci permettant de travailler sur un nombre d'individus plus ou moins important) sont des facteurs qui influencent directement dans les élevages le maintien du degré d'hétérozygotie indispensable.

En définitive, nous voyons que, lors des essais d'élevage en alimentation artificielle, le nombre des générations successives réalisé peut dépendre de facteurs autres que la valeur de l'alimentation. Leur action est d'autant plus difficile à déceler qu'un élevage témoin sur alimentation naturelle pose certains problèmes (d'ordre sanitaire principalement) et que par ailleurs ce témoin est une référence critiquable puisqu'un tel aliment est constamment variable d'un point de vue qualitatif. Chez diverses espèces le facteur « consanguinité stricte » a une action prépondérante et masque l'action de tous les autres. Afin de pouvoir considérer comme alimentation artificielle satisfaisante celle qui permet de réaliser un certain nombre de générations successives (DAVID, 1967) il est important d'éviter une consanguinité trop poussée dans les élevages. Il serait peut-être même souhaitable que, pour certaines espèces comme *H. armigera*, quelques normes élémentaires soient respectées (ayant trait par exemple à un nombre minimum d'individus élevés par génération) ; sans cela, le critère *nombre de générations* perd une partie de sa signification.

Ce problème est aussi très important quand il s'agit d'élever des insectes qui seront par la suite utilisés à d'autres fins expérimentales, par exemple pour la mise au point des méthodes de lutte biologique ou autocide, pour lesquelles il est indis-

(1) *M. oleracea* et *P. saucia* se sont montrées depuis sensibles à l'*inbreeding*.

céder permet de maintenir la vigueur (fertilité) de l'espèce à un niveau moyen mais constant.

4. *Populations continentales et populations insulaires*

Dans les conditions naturelles, le taux de mortalité important chez la descendance d'un couple et le caractère migratoire d'une espèce appartenant à une population continentale rendent pratiquement nulles les chances d'accouplement entre mâles et femelles issus de mêmes parents. L'hétérosis, mis en évidence par HARDWICK, n'a sans doute pas le rôle important que cet auteur lui attribuait sur le plan écologique.

Nos résultats ne sont par ailleurs pas incompatibles avec les hypothèses d'HARDWICK sur les peuplements insulaires du Pacifique. Cet auteur avait montré que de telles populations possédaient une tolérance à l'*inbreeding* supérieure à celle des populations continentales. Dans nos élevages nous avons maintenu, pendant 14 générations, une souche à fertilité moyenne mais constante, en pratiquant un *inbreeding* limité. Mais le retour à l'*inbreeding* strict (croisement frère-sœur) s'est toujours traduit par une dégénérescence rapide.

On peut cependant supposer qu'en continuant assez longtemps un élevage comme le nôtre, on finirait par voir apparaître une tolérance plus grande à l'*inbreeding* strict. Nous espérons pouvoir le montrer dans l'avenir, peut-être sur une autre espèce plus facile à élever.

CONCLUSIONS

Quelle que soit la nature de l'alimentation, une perte de vigueur générale a été fréquemment observée chez différentes espèces de *Noctuidae* au fur et à mesure que les générations se succédaient au laboratoire.

La mise au point d'une alimentation artificielle nécessite des essais portant sur plusieurs générations successives, et nous avons été amené à rechercher les causes éventuelles de cette perte de vigueur.

Les données générales recueillies dans différentes expériences sont les suivantes :

1° Dans les élevages conduits suivant les méthodes classiques, la perte de vigueur se traduit par une mortalité larvaire de plus en plus élevée et un taux d'accouplement de plus en plus faible. L'intensité de ce phénomène paraît assez variable selon les espèces. Passé 3 générations, nombre d'entre elles ne peuvent être maintenues en laboratoire.

2° Nous avons observé, chez *H. armigera*, qu'en rompant la consanguinité toujours réalisée à un degré plus ou moins important chez les lignées en élevage, la vigueur réapparaissait et que, en évitant systématiquement la consanguinité au degré « frère-sœur », nous pouvions maintenir une vigueur moyenne sur un nombre relativement élevé de générations.

3° Suivant cette même méthode nous avons pu élever, sans que les symptômes habituels de chute de vigueur ne se manifestent :

14 générations de *H. armigera* au lieu de 3,
10 générations de *A. c. nigrum* au lieu de 5,
28 générations de *S. exigua* au lieu de 2.

IGNOFFO C. M., 1963. A successful technique for mass rearing cabbage loopers on a semisynthetic diet. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **56**. 178-182.

KAMANO S., FUKAYA M., 1965. On the successive rearing of rice stem borer on the artificial diets under aseptic conditions. IV, the inbreeding and the rotational breeding of the rice stem borer (en japonais) *Jap. J. appl. Entomol. Zool.*, **9**, 89-93 (in RAE 54, 87).

MERZHEEVSKAYA O. I., 1963. Noctuids (*Lepidoptera*) reducing the yield of agricultural crop in the Byelorussian. S. S. R. (en russe). *Zool. Zh.*, **42**, 359-367 (in RAE 53, 84).

MOORE I., NAVON A., 1964. An artificial medium for rearing *Prodenia litura* F. and two other Noctuids. *Entomophaga*, **9**, 181-185.

POITOUT S., CAYROL R., 1969. Action de différents facteurs sur le nombre de stades larvaires chez la Noctuelle de la Tomate *Helicoverpa armigera* HBN. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, **5**, 407-427.

SHOREY H. H., 1963. A simple artificial rearing medium for the cabbage looper. *J. econ. Entomol.*, **56**, 536-537.

SHOREY H. H., HALE R. L., 1965. Mass rearing of the larvae of nine noctuids species on a simple artificial medium. *J. econ. Entomol.*, **58**, 522-524.

SNOW J. W., CALLAHAN P. S., 1967. Laboratory mating studies of the corn earworm, *Heliothis zea* (*Leptdoptera Noctuidae*). *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **60**, 1066-1071.

TAMAKI Y., 1966. Mass rearing of the smaller tea tortrix *Adoxophyes orana* FISHER VON RÖSLERSTAMM, (Lep. *Tortricidae*) on a simplified artificial diet for successive generations (en japonais). *Jap. J. appl. Entomol. Zool.*, **1**, 120-124 (in RAE 55, 243).

VANDERZANT E. S., et *al.*, 1962. Rearing of the bollworm on artificial diet. *J. econ. Entomol.*, **55**, 140.

WATERS., 1943. Rearing insects that attack plants. Corn earworm, bollworm, tomato fruitworm, *Heliothis armigera* HBN. *in* : Laboratory procedures in studies of chemical control of insects. *Amer. Ann. Adv. Sci. Publ.*, **20**, 16-17.

pensable d'assurer une production constante d'insectes aussi vigoureux que possible.

Enfin, la mise en évidence du phénomène de consanguinité dans des élevages de laboratoire permet de poser le problème de son importance éventuelle en écologie des populations. Nous pensons en particulier avoir montré, chez un insecte migrant comme *H. armigera*, que le brassage de populations n'est pas un facteur indispensable au maintien de la vigueur de ces populations ; seule la consanguinité stricte (frère-sœur) est hautement défavorable ; une consanguinité limitée (cousins) permet le maintien d'une population à vigueur moyenne ; c'est probablement ce qui se passe dans des conditions de confinement telle l'insularité, étudiée par HARDWICK.

Reçu pour publication en avril 1969.

SUMMARY

INBREEDING AMONG *NOCTUIDAE (LEPIDOPTERA)*.
EVIDENCE OF ITS IMPORTANCE IN BREEDINGS UNDER ARTIFICIAL CONDITIONS

A stock of *Noctuidae* maintained in laboratory breeding (on natural or artificial medium) degenerates usually after 2 to 3 generations. This degeneration is not linked with the type of feeding or the environmental conditions. On the contrary, it is clearly related to the inbreeding conditions, which are mostly created unintentionally.

By avoiding systematically strict inbreeding in our breedings on artificial medium, we could obtain 14 generations of *Helicoverpa armigera* (instead of 3), 10 generations of *Amathes c. nigrum* (instead of 5), 28 generations of *Spodoptera exigua* (instead of 2). This phenomenon has also been shown for *Mamestra oleracea* and *Peridroma saucia*. The stocks maintained in this way keep an average but constant fecundity and fertility.

The particular study of the problem of ecological genetics of *H. armigera*, set by HARDWICK, shows that the migration of this insect probably do not play an important part in maintaining the vigour of the populations. On the other hand the adaptation of populations to particular conditions of confinement (insularity) reveals a certain biological plasticity, which could be seen in the permanent breedings.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARBUTHNOT K. D., 1944. Strains of the european corn borer in the United States. *U. S. Dept. Agric. Techn. Bull.*, **869**, 1-20.

CAYROL R., 1962. Inter-relations de l'alimentation et des autres facteurs du milieu sur les chenilles de *Plusia gamma* L. (Lep., *Noctuidae*). *Ann. Nutrit. Aliment.*, **16**:, 211-221.

CALLAHAN P. S., 1958. Behavior of the imago of the corn earworm, *Heliothis zea* (BODDIE), with special reference to emergence and reproduction. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **51**, 758-760.

CALLAHAN P. S., 1962. Technique for rearing the corn earworm, *Heliothis zea*. *J. econ. Entomol.*, **55**, 453-457.

COMMON I. F. B., 1953. The australian species of *Heliothis* (Lep. *Noctuidae*) and their pest status. *Austral. J. Zool.*, **1**, 319-344.

DANILEVSKII A. S., 1961. *Photoperiodism and seasonal development of insects* (en russe). 1965. Traduction anglaise, p. 172, Oliver and Boyd, Edinburg and London.

DAVID J., 1967. Méthodes d'évaluation des besoins nutritionnels des insectes élevés sur milieux artificiels. *Ann. Nutrit. Aliment*, **21** (2), 25-54.

ELLISOR L. O., 1935. A technique for rearing the corn earworm, *Heliothis obsoleta* FAB. *J. econ. Entomol.*, **28**, 647-648.

GEORGHIOU G. P., 1965. Genetic studies on insecticide Resistance. in *Advances in Pest Control Research*, Vol. 6, 171-230, Metcalf R. L., Interscience, New York.

HARDWICK D. F., 1965. The corn earworm complex. *Memoirs entomol. Soc. Canada*, **40**, 39-42.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 265-279.

OVOGENÈSE ET EMBRYOGENÈSE CHEZ *XIPHINEMA INDEX* (*NEMATODA : DORYLAIMIDA*)

A. DALMASSO et T. YOUNES (1)

Station de Recherches sur les Nématodes,
Centre de Recherches d'Antibes
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

L'étude de l'ovogenèse d'une espèce appartenant au genre *Xiphinema* est abordée pour la première fois. La reproduction parthénogénétique normale pour *X. index* a d'abord été confirmée. Chez cette espèce, la préméiose est caractérisée par une longue phase à chromatine diffuse ; c'est à ce stade que l'ovogenèse se trouve bloquée lorsque les conditions sont défavorables à la reproduction. La ponte intervient alors que l'ovocyte est en fin d'anaphase de la première division de maturation. Le nombre diploïde de chromosomes est évalué à 20.

L'embryogenèse est classique et, si elle est plus ou moins rapide, elle ne semble jamais être ralentie par une quiescence ou une diapause. Elle se déroule en 12 jours environ à la température de 22-23°C.

INTRODUCTION

L'étude de l'ovogenèse des *Xiphinema* se révèle particulièrement intéressante car son déroulement est soumis à l'influence directe de différents facteurs, tels le climat dans le sol ou la qualité et la nature de l'alimentation. Lorsque les conditions sont défavorables, et c'est souvent le cas pour ce genre, l'ovogenèse se bloque. Toutefois, les difficultés rencontrées par les *Xiphinema* dans leur multiplication sont compensées par une longévité qui peut atteindre plusieurs années. Ainsi, contrairement à beaucoup de nématodes phytoparasites qui se reproduisent et meurent dans un délai obligatoirement court, ceux-ci peuvent, dans la nature, survivre à certaines conditions adverses et se multiplier à nouveau l'année suivante. Les périodes de ponte dépendent de l'espèce et varient assez sensiblement d'une région, voire même d'une localité à l'autre. L'ovogenèse des *Xiphinema* n'a pas encore été étudiée, alors que la connaissance de son processus apparaît essentielle pour les études de populations.

(1) T. YOUNES, stagiaire libanais. Laboratoire de Biologie générale et appliquée de la Faculté des Sciences de l'Université libanaise, Beyrouth.

De même, le caryotype des principales espèces est un élément non négligeable pour la compréhension de leurs relations phylogéniques et éventuellement pour la caractérisation de biotypes.

X. index, qui est un des *Xiphinema* les plus nuisibles en raison de son rôle dans la transmission de la dégénérescence infectieuse de la vigne, a été choisi comme premier matériel de travail. Nous avons d'abord étudié l'évolution des cellules germinales et sexuelles depuis la gonie jusqu'à l'œuf ; puis le développement de cet œuf. On sait que l'espèce est caractérisée sur le plan biologique par la rareté des mâles, ce qui suggère d'emblée une reproduction parthénogénétique. Nous avons pu le confirmer en obtenant une population abondante à partir d'une seule larve, élevée isolément.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel étudié provient d'un élevage de masse conservé sur figuier. La population d'origine a été recueillie dans un vignoble court-noué de Saint-Maximim (Var). Elle a été multipliée pendant deux ans à 20°C, à la Station de Nématologie d'Antibes. Au moment des tests, nous trouvions dans le milieu l'ensemble des stades, dont de très nombreuses femelles porteuses de gros ovocytes (impliquant une activité reproductrice) et quelques mâles.

Les dissections sont réalisées par incision des femelles, à l'aide d'une lame de rasoir, au niveau de la vulve. De la sorte, les deux gonades, projetées à l'extérieur du corps par la pression interne, peuvent être récupérées et utilisées en frottis pour l'observation, après avoir subi un traitement adéquat. Pour des raisons énoncées plus loin, nous avons dû aussi utiliser des femelles moribondes ; dans ce cas, la pression interne ne suffisant pas, il a été nécessaire d'extraire progressivement les organes reproducteurs en maintenant fermement le nématode par l'extrémité correspondante du corps. Pour les mâles les incisions ont été réalisées au niveau des spicules.

Deux modes de fixation ont été comparés ; le Carnoy et le Sublimé acétique, mais seul le second, très supérieur, a été retenu. Les méthodes cytologiques suivies sont celles décrites par V. NIGON en 1949 et par J. BRUN, en 1955.

Le développement embryologique a été observé en goutte pendante sur des œufs prélevés, soit dans le sol, soit sur les femelles elles-mêmes.

L'OVOGENÈSE CHEZ X. INDEX

Description de l'appareil génital de la femelle

La femelle de *X. index* possède deux gonades opposées et repliées. L'ovaire constituant la partie repliée, celui-ci est entouré d'une gaine dont les noyaux, colorés violemment par le Schiff, sont bien visibles. L'oviducte s'ouvre largement sur le côté ventral de l'ovaire, mais son niveau d'insertion ne peut être défini avec précision par suite de l'élasticité du cul-de-sac ovarien. A son extrémité distale l'oviducte change de structure et constitue une poche : la *pars dilatata* (COOMANS, 1964) formée d'un tissu de cellules épithéliales réparties de façon anarchique qui donnent à cette partie de la gonade un aspect extérieur quelque peu boursouflé. Le sphincter, qui lui fait suite, sépare nettement l'oviducte de l'utérus. Ce dernier comprend également une *pars dilatata* qui est plus vaste que celle de l'oviducte et composée d'un nombre assez conséquent de cellules. Chez les espèces bisexuées, comme *X. diversicaudatum*, la zone la plus distale de cette poche qui fait office de spermathèque, contient presque tou-

jours un grand nombre de spermatozoïdes. Là, ceux-ci paraissent adhérer étroitement à la paroi de l'utérus et les ovocytes ne parviennent pas à les repousser vers l'extérieur lors de leur passage, malgré leur fort diamètre. Cette différenciation tissulaire ne paraît guère utilisée chez *X. index* ; en effet, en dépit de la présence de quelques mâles, nous n'avons jamais décelé de spermatozoïdes dans le tractus génital.

De même, il ne semble pas que les femelles de *X. index* soient fécondées par les mâles de *X. diversicaudatum* (ou alors il s'agit d'un phénomène exceptionnel). Seules les femelles de cette espèce contiennent des spermatozoïdes en très grand nombre, chaque fois qu'il y a mélange de population. L'utérus de *X. index*, qui ne présente pas d'organe « Z », se termine par un canal allongé, très dilaté lorsque la femelle est gravide.

Quand la gonade est quiescente, l'ovaire est réduit et ses autres parties sont clairement visibles après dissection. Par contre, en pleine activité reproductrice, le cul-de-sac ovarien s'allonge sous la poussée des ovocytes. Plus loin, on peut trouver jusqu'à quatre ovocytes de grande taille, logés alors successivement, un dans la *pars dilatata* de l'oviducte, un dans celle de l'utérus et deux dans l'ultime portion de celui-ci. On remarque que ces derniers ont un aspect différent et sont protégés par une enveloppe assez épaisse (voir fig. 1).

Processus de l'ovogenèse

La zone de multiplication des gonies ou zone terminale est peu étendue. Elle comprend de 10 à 20 cellules et occupe approximativement le 1/6 de l'ovaire. Malgré la présence de figures mitotiques très nettes, la numération chromosomique demeure délicate, en raison de la taille des cellules et de la densité de la chromatine. On peut toutefois compter vingt unités chromatiniennes (cliché 2, pl. II).

La prophase méiotique débute par un synapsis qui n'est représenté que par un très petit nombre de cellules ; 4 à 5, parfois moins. La chromatine y est disposée en un réseau groupant une dizaine de taches qui tendent à s'étirer chez les ovocytes les plus âgés (cliché 1, pl. II). Les ovocytes en croissance occupent tout le reste de l'ovaire ; ils y atteignent une taille considérable caractéristique. Durant cette période le noyau est volumineux et englobe en son centre un énorme nucléole. La chromatine est difficilement colorable et rejetée à la périphérie du noyau par le nucléole ; sur les frottis particulièrement réussis, la zone périphérique du noyau est soulignée par un léger halo rose.

On distingue chez les ovocytes de grande taille logés dans le cul-de-sac ovarien un début de recondensation chromatinienne précédant de peu la diacinèse. On remarque alors que ces amas sont rejetés vers un pôle du noyau. Toute cette phase d'accroissement cytoplasmique correspond donc, sur le plan nucléaire, à une période où la chromatine demeure très diffuse. On peut rapprocher cette séquence de ce que Nigon (1949) appelle « l'interphase postsyndétique ». Chez *Xiphinema index*, cette phase est très longue et débute tôt (cliché 1, pl. II). On compte de 12 à 25 ovocytes environ, alignés au début sur deux rangs, puis s'empilant rapidement en une seule file. C'est à ce stade de la prophase méiotique, qui doit correspondre dans l'ensemble au pachytène, que l'ovogenèse se trouve bloquée lorsque les conditions extérieures nécessaires à la reproduction de l'espèce sont défavorables. Dans ce dernier cas, les ovocytes sont moins nombreux, les plus grands ont disparu et il y a résorption du cul-de-sac ovarien. Il apparaît donc que cette poche permet un léger stockage des

ovocytes élaborés quand les conditions sont optimales, ce qui favorise cette espèce où le déclenchement de l'ovogenèse est soumis à une stricte conjonction de facteurs et où le nombre d'œufs élaborés au cours d'une période de reproduction est souvent restreint dans les conditions naturelles.

C'est au niveau du cul-de-sac ovarien que se décèlent les premiers signes d'activité ; chez le plus ancien ovocyte apparaissent des figures prédiacinétiques et diacinétiques succédant à la phase diffuse. Si le noyau reste encore assez difficile à colorer par le réactif de Schiff, excepté pour les figures en diacinèse, le cytoplasme continue à fixer le vert lumière aisément. La diacinèse est atteinte au moment où l'ovocyte s'engage dans l'oviducte et gagne la *pars dilatata*. Il est alors très grand (moins large, mais plus allongé que l'œuf futur) et ne possède pas encore d'enveloppe épaisse ; il a cependant tendance à se ramasser peu à peu. Sur le matériel vivant, on constate que le cytoplasme est devenu plus dense et plus sombre que celui des ovocytes qui le précédaient et aussi de ceux qui le devancent.

Cela se traduit dans les frottis par une perte de colorabilité au vert lumière et par une légère réactivité au Feulgen. Les ovocytes prennent alors une teinte rose clair caractéristique qui implique des transformations importantes dont la nature nous échappe encore (cliché 1, pl. III). On trouve au niveau de la *pars dilatata* de l'oviducte des ovocytes à différents stades de la métaphase et même assez fréquemment en anaphase. Il faut rappeler qu'il n'y a de place dans cette poche que pour un seul ovocyte et qu'il est nécessaire de recourir à plusieurs gonades pour avoir une idée exacte du déroulement des faits. Pour en terminer avec la diacinèse, il faut noter que nous avons pu observer des tétrades et des bivalents, surtout dans le sac ovarien sur des ovocytes sur le point de glisser dans l'oviducte (clichés 4 et 5, pl. II). Mais c'est, en prométaphase, juste après le passage dans celui-ci, que l'on peut compter avec certitude 10 chromosomes bivalents (cliché 6, pl. II). La taille de ces chromosomes est alors inférieure à 0,5 μ et ils sont punctiformes. Les plaques métaphasiques sont situées dans un plan oblique très net par rapport à l'axe de l'œuf (angle de 45° environ) (cliché 4, pl. III). Toujours à ce niveau, on peut déjà trouver aussi deux plaques anaphasiques sur lesquelles on dénombre, lorsqu'elles sont en vue polaire, deux fois 10 chromosomes (clichés 9, 10 et 11, pl. II). Ainsi, le passage de l'ovaire à l'oviducte est marqué par des transformations totales et assez rapides qui affectent autant le noyau que le cytoplasme dont on suit aisément l'évolution par le changement progressif de sa coloration.

Ensuite l'ovocyte franchit le sphincter et gagne la poche de l'utérus, puis la partie inférieure de cet organe qui est alors fortement dilatée. Là, la membrane qui l'entoure s'épaissit, tandis que son cytoplasme devient de plus en plus Feulgen positif. Le noyau est toujours à ce moment en anaphase de la première division de maturation. Sur certains ovocytes, on voit clairement le fuseau et les deux plaques (clichés 7, 8, 9, 10 et 11, pl. II), sur d'autres plus avancés, l'anaphase touche à sa fin et la chromatine s'étire et tend à devenir diffuse. Nous n'avons jamais trouvé de stade ultérieur et on peut penser que la ponte s'effectue bien à ce stade de la maturation.

Pour préciser le processus du rétablissement du nombre diploïde de chromosomes, nous avons utilisé plutôt que des « œufs » nouvellement pondus (c'est-à-dire plus exactement des ovocytes de 2^{e} ordre), des ovocytes extraits par dissection. Ceci après rétention artificielle de la ponte, qui est obtenue en laissant séjourner les

femelles pendant 48 heures dans l'eau, ce qui permet aux ovocytes d'évoluer dans le tractus génital où ils sont récupérés et colorés par la technique habituelle.

Ceci nous a permis d'assister à l'individualisation du premier globule polaire après la ponte. Bien que nous n'ayons pu le saisir avec une certitude absolue, il est probable que celui-ci est rejeté et que la récupération du nombre diploïde se réalise lors de la deuxième division de maturation (clichés 2 et 3, pl. III). La phase séparant la ponte de la première division de segmentation dure une quinzaine d'heures ; l'œuf est alors mûr et entame son embryogenèse.

L'EMBRYOGENÈSE DE X. INDEX

Après la ponte l'ovocyte subit un gonflement rapide qui accroît sa largeur, alors que sa longueur demeure sensiblement la même. Il est ainsi 3,2 fois plus long que large, alors que ce rapport est de 4 pour ceux qui sont encore dans l'utérus. Cette évolution, qui a déjà été constatée par J. M. FLEGG (1967) sur d'autres espèces, suppose une certaine élasticité de l'enveloppe et aussi des échanges avec le milieu liquide environnant. La coque de l'œuf se recouvre de particules diverses qui apportent sans doute un supplément de protection, mais qui gênent l'observation. C'est pourquoi, comme précédemment, nous avons surtout utilisé des ovocytes prélevés directement dans l'utérus. Le développement embryonnaire débute dix à vingt heures environ après la ponte, une fois la maturation de l'ovocyte achevée. Sa vitesse est influencée, tant par des facteurs climatiques comme la température, que par des facteurs chimiques comme les gaz en solution, etc., et l'intervalle de temps séparant la ponte de l'éclosion est variable.

RADEWALD (1962) a montré que la température optimale se situe, chez *X. index*, entre 20 et 25°C, avec 93 p. 100 d'éclosion ; l'embryogenèse se déroule alors en 7 à 14 jours. Au-dessous de 20°C, ce pourcentage décroît progressivement et s'annule vers 10°C, alors que le développement est de plus en plus lent. Ce dernier s'accélère au-dessus de 25°C, mais le pourcentage d'éclosion décroît et s'annule vers 35°C. Nous avons observé des faits équivalents. Le temps entre la ponte et l'éclosion peut effectivement s'allonger et dépasser une vingtaine de jours si les conditions sont mauvaises. D'autre part le taux d'éclosion dépend en partie de la qualité de la solution constituant l'environnement. Une salinité importante interdit tout développement. De même une eau très calcaire n'est pas très favorable ; 20 p. 100 seulement des œufs parviennent à y évoluer et encore à condition de partir d'œufs ayant déjà atteint le stade gastrula. L'eau de pluie, avec environ 45 p. 100 d'éclosions, et l'eau déminéralisée, avec 65 p. 100, constituent un milieu meilleur. Le pourcentage le plus élevé a été atteint avec une eau adoucie (75 p. 100 et plus) ; en dépit de ces résultats assez nets, nous avons subi aussi à plusieurs reprises dans l'élevage des œufs des échecs qui demeurent encore inexpliqués. Il est cependant indiscutable que certains ions ont une influence non négligeable qu'il serait intéressant de préciser. Les différentes phases de l'embryogenèse sont illustrées par la planche IV. Les observations ont été réalisées avec ovocytes placés dans l'eau déminéralisée à une température variant de 22 à 23°C. Lorsque le noyau réapparaît au centre de l'ovocyte, marquant le départ

de l'ovogenèse, il possède ses 20 chromosomes et va entamer sa première division mitotique de segmentation. Celle-ci débute 5 heures après et est marquée sur le vivant par la disparition du noyau signalant son entrée en activité, tandis que l'ébauche de la séparation commence à être perceptible à la périphérie de l'œuf. Il s'écoule environ 12 à 15 minutes entre les premiers signes de la formation de la membrane de séparation et le clivage définitif avec migration nucléaire vers le centre des deux premiers blastomères (clichés 1 à 5, pl. IV). Les deux divisions suivantes sont transversées par rapport à l'axe de l'œuf. La coloration des premiers stades embryonnaires permet aussi de retrouver un phénomène très récemment observé par TRIANTAPHYLLOU (1969) chez un *Meloidogyne*. Il s'agit de la persistance de petits nucléoles après la prophase (cliché 5 pl. III). Le stade IV est atteint après 18 heures par certains œufs, alors que d'autres n'y parviennent qu'après 28 à 30 heures. Ces écarts n'ont pu être expliqués ; ils pourraient être dus au milieu environnant qu'il est difficile de maintenir rigoureusement constant et aussi au fait qu'il s'agit d'œufs provenant de femelles disséquées et n'ayant pas eu des conditions de maturation totalement équivalentes.

Le déroulement de l'embryogenèse dans le temps, avec les conditions précitées peut être résumé ainsi :

— Ovocyte I à ovocyte II	10 heures environ —
— Ovocyte II à 1re division de segmentation	15-21 heures après —
— Passage du stade II à IV	5- 8 h — 20- 29 h après
— Passage du stade IV à VI	1- 3 h — 21- 31 h après
— Passage du stade VI à IX	1- 3 h — 22- 31 h après
— Passage du stade IX à XV	2- 5 h — 24- 39 h après
— Passage du stade XV à XX	5- 7 h — 29- 46 h après
— Passage du stade XX à XXX	7-10 h — 35- 56 h après
— Passage du stade XXX à XL	7-10 h — 42- 66 h après
— Passage du stade XL à LX	7-10 h — 48- 76 h après
— Morula avec feuillets visibles	30 h — 70- 90 h après (environ)
— Invagination (début gastrula)	15 h — 90-120 h après
— Début embryon enroulé	15 h — 105-135 h après (environ)
— Apparition de la pointe du stylet	25-30 h — 137-160 h après (1 sem.)
— 1er stylet	20-35 h — 158-180 h après (1 sem.)
— Guide formé	25 h — 185-200 h après
— 2e stylet formé, éclaircissement de l'embryon	20-30 h — 207-230 h après
— Stylet I avec ailettes	20-30 h — 255 h
— Éclosion	— 300 h environ soit du 12e au 13e jour

Ces chiffres proviennent de l'observation de plusieurs lots d'œufs. La somme des extrêmes des temps de développement depuis l'origine, ne correspond pas à celle de l'addition simple des chiffres des extrêmes pour le franchissement de chacun des stades, du fait que l'observation n'a pas été continue au cours de 400 heures et qu'il

est parfois difficile de préciser, à quelques heures près, le franchissement des différentes étapes (notamment entre le stade 15 cellules et le stade gastrula).

DISCUSSION

L'étude de l'ovogenèse et de l'embryogenèse des *Xiphinema* et des *Longidorus* est gênée par les difficultés d'élevage rencontrées chez un certain nombre d'espèces. Cependant, le progrès des connaissances écologiques doit faciliter ces recherches, ne serait-ce qu'en permettant l'utilisation immédiate du matériel récolté au moment des périodes de reproduction dans la nature.

Dans le cas présent, il n'est pas possible, faute de données, de comparer les observations recueillies sur *X. index*, vis-à-vis d'autres *Longidoridae*. Il existe donc un champ de recherches assez vaste qui touche à la fois à la cytologie, à l'écologie et à la systématique. Il serait intéressant de définir le caryotype d'autres populations de *X. index* géographiquement éloignées, afin de vérifier si le nombre trouvé est bien général (outre la population de Saint-Maximin (Var), nous avons chiffré également à 20 chromosomes la formule de deux autres populations ; une d'origine inconnue et une récoltée à Besse (Var)). Il faudra aussi ultérieurement analyser les artefacts éventuels résultant de la rétention artificielle de la ponte, et revenir sur la physiologie de l'embryogenèse et sur la biochimie de l'ovogenèse où des inconnues subsistent. Enfin, l'étude en cours de la gamétogenèse de *X. diversicaudatum*, qui est une espèce très voisine de *X. index*, mais qui possède de nombreux mâles, devrait contribuer à préciser les relations entre ces deux espèces fort répandues en France et qui ont une importance agronomique de premier plan.

Reçu pour publication en mai 1969.

REMERCIEMENTS

Les auteurs sont très reconnaissants envers J. BRUN, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Lyon, pour les suggestions et les encouragements qu'il leur a prodigués au cours du présent travail.

SUMMARY

OOGENESIS AND EMBRYOGENESIS OF *XIPHINEMA INDEX*

Reproduction, oogenesis, embryogenesis of *Xiphinema index* are studied. The population originated from a South-East French vineyard has been grown for two years on fig trees in greenhouse. Technic used : coloration of nucleus by Schiff reactive and for cytoplam with *vert lumière* S. F. as in NIGON, 1949. Parthenogenesis has been confirmed, one larva being able to rise a population. 20 chromosomes were counted on oogonial divisions in germinal part. First maturation division is characterized by a meiotic prophase including a few synapsis cells and a very long « interphase » (cf. NIGON, 1949). During this interphase chromatin is becoming diffuse and looses its stainability while a large nucleolus appears inside nucleus. When conditions are unfavourable for reproduction

oogenesis stops at this stage of prophase. Diakinetic features appear only during reproductive periods at these times ovarian sac elongates, number of oocytes at the prophase stage increases ; some of them being very elongated.

During prophase cytoplasm is colourable by *vert lumière* and later by « Feulgen ». Diakinetic chromosomes are visible in oocytes in oviduct *pars dilatata*. In metaphase chromatin contracts and is more strongly stained. Some others oocytes are in anaphase.

Tetrads and bivalents are visible, and chromosome number appears to be haploid : 10 bivalents are counted instead of 20 chromosomes in oogonial metaphases. Uterus contents from one up to three oocytes which are at anaphase stage of the meiotic division and of 10 chromosomes each are clearly distinguishable. Oviposition occurs at this stage and we have never encountered a further one in uterus of fresh living females. Many factors make uncertain analysis of later stages until egg has got 20 chromosomes.

Two other populations from different localities show 20 chromosomes too.

Embryogenesis of *X. index* is also described with some observations on the environment.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BRUN J., 1955. Évolution de la prophase méiotique chez *C. elegans*, sous l'influence des températures élevées. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **89**, 326-346.

FLEGG J. J. M., 1967. Increase in size of dorylaimid eggs after laying. *Nematologica*, **13**, 641-642.

FLEGG J. J. M., 1968. Embryogenic studies of some *Xiphinema* and *Longidorus species*. *Nematologica*, **14**, 137-145.

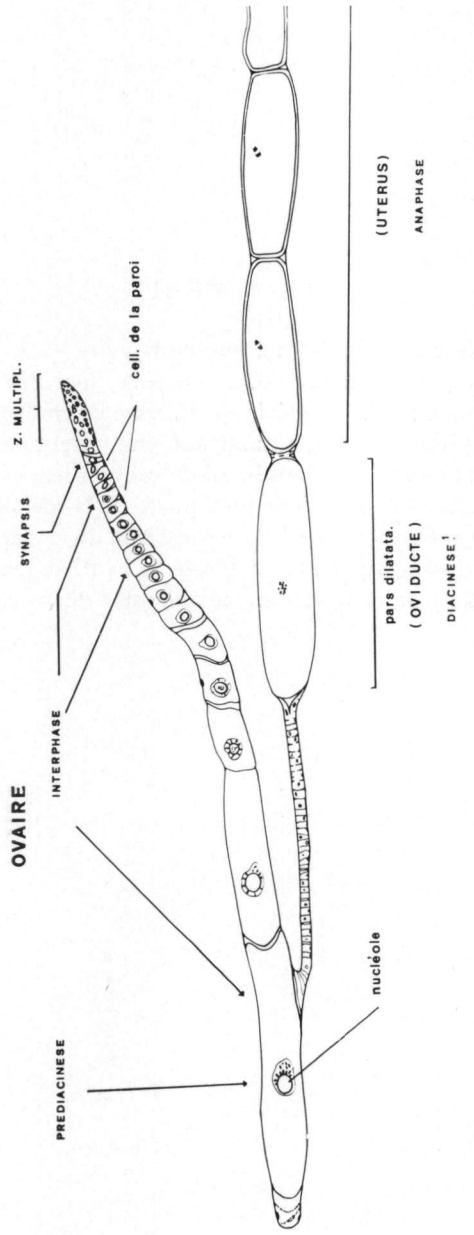
NIGON V., 1949. *Les modalités de la reproduction et le déterminisme du sexe chez quelques nématodes libres*. Thèse, Facul. Sci. Univ. Paris, p. 132.

RADEWALD J. D., 1962. *The biology* of Xiphinema index *and the pathological effect of the species on grape*. *Ph. FD. Thesis, Univ. of California*, 59p.

TRIANTAPHYLLOU A. C., 1969. Gametogenesis and chromosomes of two root-knot nematodes. *Meloidogyne graminicola* et *M. naasi*. *J. Nematol.*, **1**, 62-71.

PLANCHE I

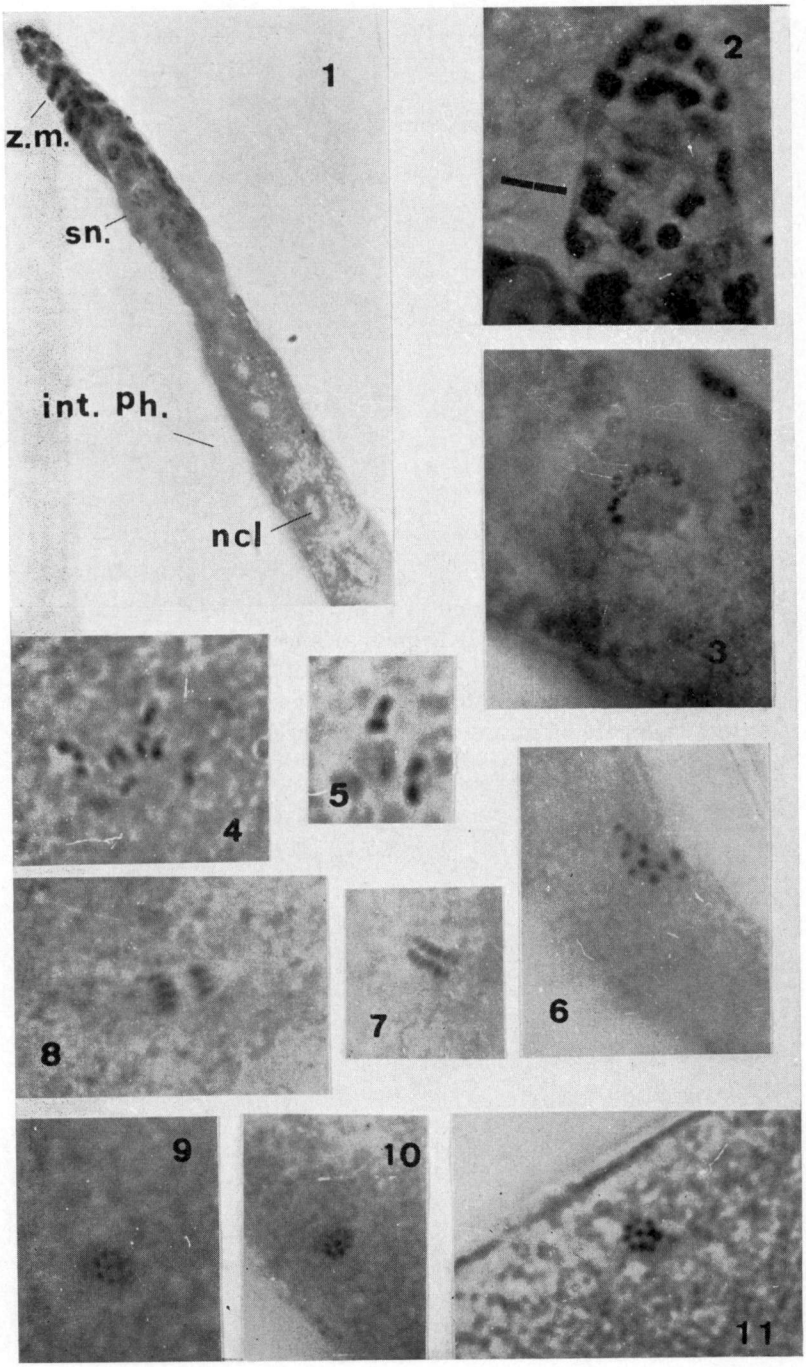
Ovogenèse : schéma général topographique des différentes phases de l'ovogenèse, se situant dans le tractus génital de *X. index*.


OVAIRE
PREDIACINESE
INTERPHASE
SYNAPSIS
Z. MULTIPL.
cell. de la paroi
nucléole
pars dilatata.
(OVIDUCTE)
DIACINESE I
(UTERUS)
ANAPHASE

PL. I

PLANCHE II

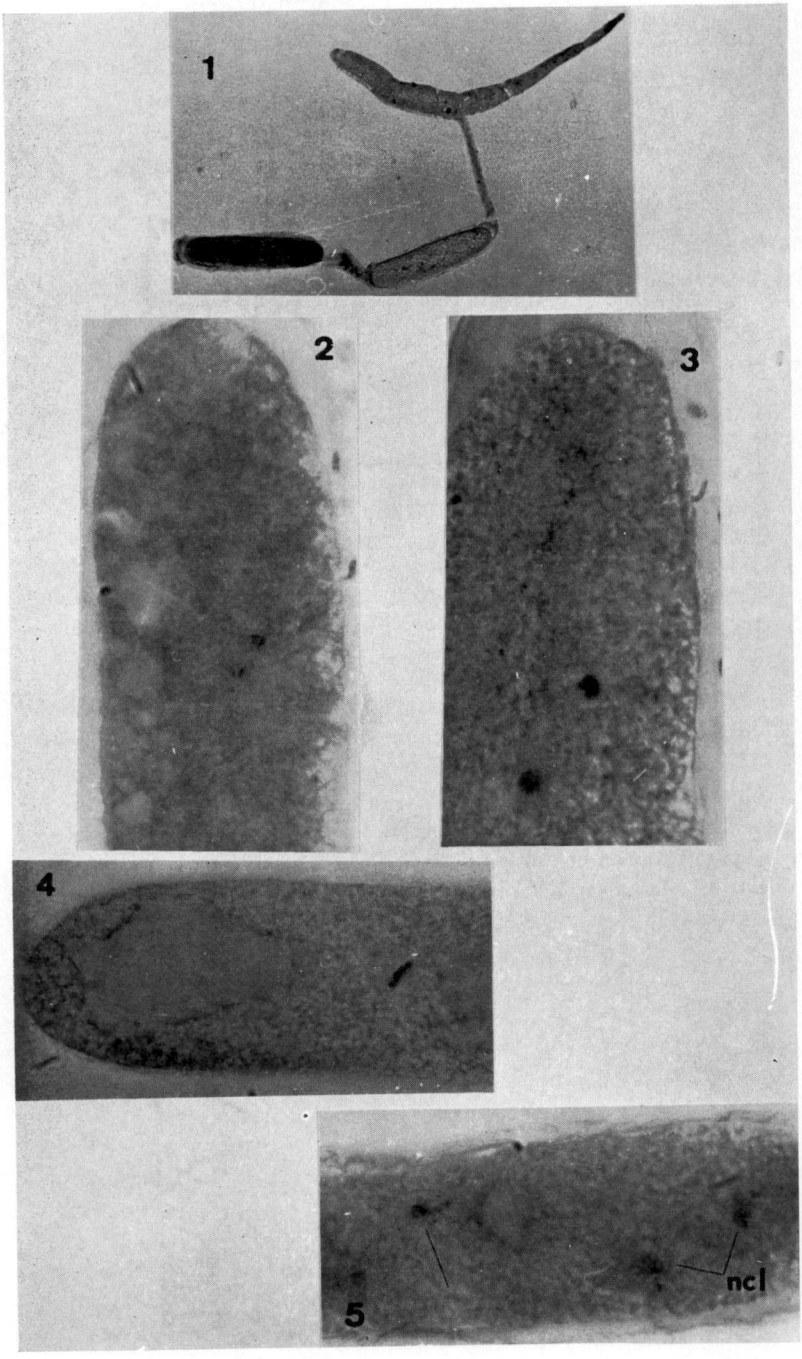
Ovogenèse : clichés : — 1 : vue de l'ovaire — z. m. : zone de multiplication des gonies ; sn. : synapsis ; int. Ph. : interphase post syndétique ; ncl. : nucléole — 2 : zone de multiplication des gonies métaphase mitotique montrant une vingtaine de chromosomes — 3 : prédiacinèse dans le cul-de-sac ovarien — 4 et 5 : diacinèse, bivalents — 6 : fin de la métaphase de la méiose avec 10 bivalents — 7 et 8 : anaphase de la 1re division de maturation vue de profil, fuseau — 9, 10 et 11 : anaphase de la 1re division de maturation en vue polaire montrant des plaques de 10 chromosomes.



PL. II

PLANCHE III

Ovogenèse : clichés : — 1 : évolution de la colorabilité du cytoplasme de l'ovocyte (fixation progressive du réactif de Schiff) — 2 et 3 : émission du premier globule polaire (ponte retenue) — 4 : métaphase de la première division de maturation montrant l'inclinaison de la plaque équatoriale par rapport à l'axe de l'œuf — 5 : œuf segmenté montrant trois petits nucléoles (ncl).

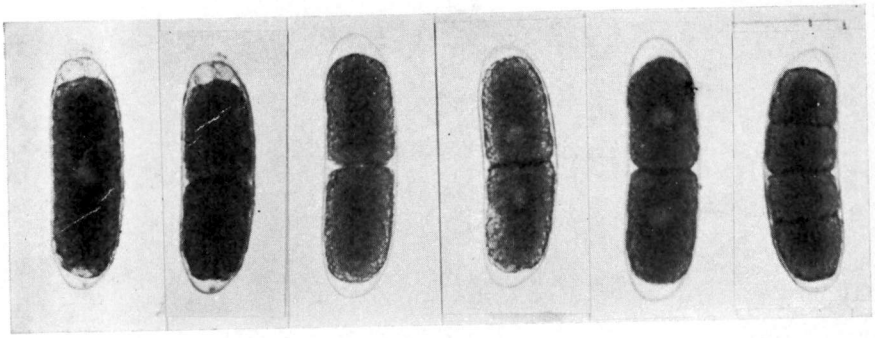


PL. III

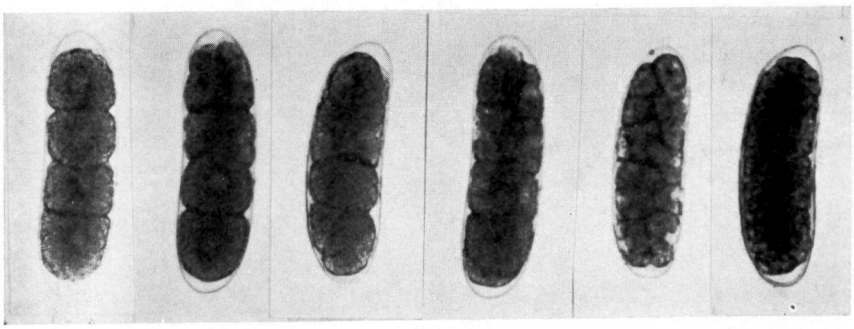
PLANCHE IV

Embryogenèse : clichés : — 1 : blastomère avec noyau visible — 2, 3 et 4 : première division de segmentation — 5 : stade à 2 blastomères — 6 et 7 : stade IV — 8 : premières divisions longitudinales — 9 : stade VIII — 10 : stade X — 11 : stade XV à XVII — 12 : morula.

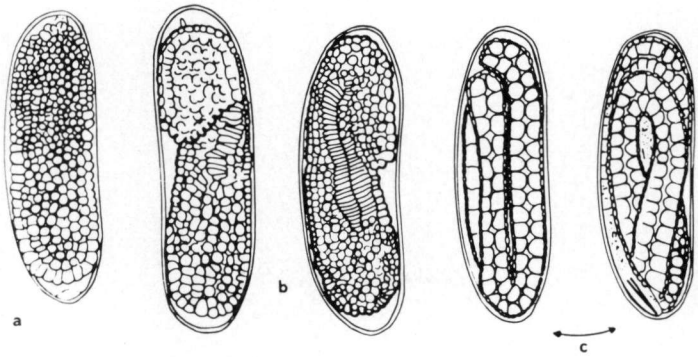
Figures : — *a :* stade morula 70-90 heures après — *b :* stade gastrula 90 heures après — *c :* apparition de l'odontostyle (embryon vu en deux positions différentes) — *d :* premier odontostyle entièrement formé 160 heures après — *e :* mise en place du guide et formation du second odontostyle 200 à 210 heures après — *f :* odontostyles et guide en place 200 à 230 heures après — *g :* formation de la partie basale du stylet 250 heures après, environ.

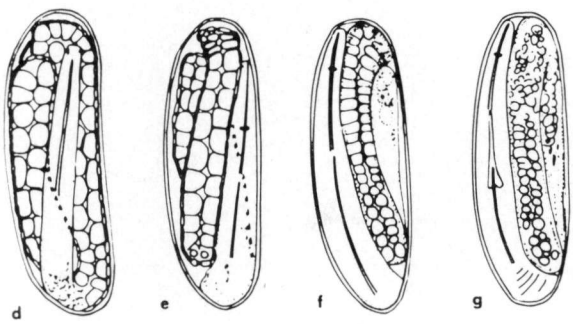


①



②





③

PL. IV

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 281-288.

RECHERCHES SUR LA COMPOSITION DES MILIEUX POUR CULTURE DE CELLULES D'INVERTÉBRÉS

C. VAGO, J.-M. QUIOT

Station de Recherches cytopathologiques, 30 - Saint-Christol-lès-Alès
Institut national de la Recherche agronomique
Faculté des Sciences de Montpellier

SOMMAIRE

La diversité grandissante des emplois des cultures de tissus d'invertébrés et la variété des espèces dont les cellules devraient être cultivées nous ont conduits à des recherches sur la possibilité de standardisation des milieux.

En prenant en considération le rapport Na/K, le taux de Mg, la valeur du Δt et le pH de l'hémolymphe, il a été établi un système de formulation de milieux permettant de cultiver des cellules de nombreuses espèces ayant des besoins essentiels semblables.

Les formules sont constituées d'une partie constante comprenant les fractions organiques, des antibiotiques et des sera, et une partie variable renfermant les fractions minérales, le réglage de pH et du Δ *t*, et d'éventuels suppléments spéciaux.

La partie constante fait appel aux formules d'acides aminés et vitamines élaborées pour les tissus de vertébrés.

Ces milieux et les souches cellulaires ont permis d'obtenir des cultures cellulaires prolongées à partir de nombreuses espèces d'invertébrés appartenant à différents ordres.

INTRODUCTION

Dès le début de la mise au point des cultures de cellules d'invertébrés, il y a une dizaine d'années, les auteurs ont souligné les grandes difficultés rencontrées pour la composition des milieux de culture (WYATT, 1956 ; VAGO et CHASTANG, 1958 ; GRACE, 1962 ; MITSUHASHI et MARAMOROSCH, 1964).

Celles-ci proviennent surtout du fait que, en opposition avec les Vertébrés, les divers groupes d'Invertébrés diffèrent considérablement entre eux quant à la composition minérale et organique de leur hémolymphe. Ainsi, alors que pour certains insectes, le taux de sodium est élevé, pour d'autres, appartenant souvent à une famille voisine, le potassium est prédominant. Entre les ordres d'invertébrés, les différences quantita-

tives et qualitatives sont encore plus importantes, et se retrouvent, évidemment, aussi dans la pression osmotique. Le pH de l'hémolymphe est également très différent d'un groupe à l'autre : il varie entre les valeurs 6,2 à et 8,2, donc dans une gamme très étendue.

La prise de conscience de cette diversité, dont nous n'avons donné ici que quelques éléments, a motivé la tendance à mettre au point des milieux de culture pour chaque espèce en essayant de reproduire de très près, dans la formule de la fraction saline, les valeurs ioniques fournies par les analyses.

Ainsi, pendant une dizaine d'années, diverses formules de milieux de culture ont été calculées en fonction des espèces utilisées et on travaille actuellement avec des milieux de culture pour le lépidoptère *Bombyx mori* L., pour le lépidoptère *Antheraea eucalypti* SCOTT., pour le dictyoptère *Blabera fusca* BRUNNER, pour le diptère *Drosophila melanogaster* MEIGEN, etc.

Toutefois, l'évolution très rapide de l'emploi des cultures de cellules d'invertébrés provoque aujourd'hui des besoins diversifiés.

D'un côté des études physiologiques nécessitent des cultures de cellules réalisées dans des milieux à composition très étudiée en fonction de celle de l'hémolymphe de chaque espèce.

Dans cette perspective on pourra considérer le fait que la composition de l'hémolymphe ne varie pas seulement d'une espèce à l'autre mais qu'elle peut montrer chez un même invertébré des différences notables en fonction de la métamorphose. Ainsi il faudrait pour un calcul précis d'un milieu, tenir compte du stade (début de période larvaire, stade nymphal, stade adulte) auquel l'insecte se trouvait au moment du prélèvement des tissus.

Mais d'un autre côté, et cela concerne la grande majorité des travaux effectués à l'aide de la culture de cellules d'invertébrés, il s'agit de cultures destinées à constituer des supports permettant l'obtention d'infections virales, bactériennes, rickettsiennes ou à protozoaires ou l'étude de lésions consécutives à des actions toxiques ou hormonales. Cet usage est comparable à celui des cultures cellulaires de vertébrés dans diverses branches de la médecine avec, toutefois, la nécessité de réaliser des cultures provenant de tissus d'animaux très éloignés les uns des autres du point de vue systématique.

Ainsi, actuellement, on est souvent amené à essayer d'obtenir des cultures cellulaires d'une gamme très étendue d'invertébrés sans rechercher les conditions très rigoureuses exigées par des recherches de physiologie cellulaire. De plus, dans le domaine de la pathologie, par exemple, de telles cultures de provenances variées sont à réaliser au sein d'un même laboratoire.

Ces usages imposent une simplification des méthodes de culture et des milieux. En recherchant celle-ci, on retient avant tout le fait que les données mêmes les plus récentes obtenues par les analyses d'hémolymphe montrent entre elles une certaine dispersion rendant illusoire une précision trop poussée dans le calcul des composants des milieux. Les défauts de précision ne semblent pas avoir la même importance pour chacun des éléments constituant le milieu. Ainsi peu de tolérance a été constatée pour les écarts de pH et de la pression osmotique. Parmi les composants minéraux le rapport sodium/potassium s'est révélé primordial alors que le maintien des éléments organiques à des valeurs relativement constantes est suffisant pour la plupart des cultures.

En partant de ces considérations nous avons cherché à simplifier la réalisation des cultures cellulaires non destinées à des études physiologiques spéciales, en essayant de constituer des milieux correspondants, dans leurs éléments essentiels évoqués plus haut, aux exigences communes de plusieurs invertébrés.

ÉLÉMENTS DE COMPOSITION DES MILIEUX

Afin de rationaliser la préparation des milieux, nous préconisons la division des formules en fractions standard. Compte tenu des besoins égaux de différents tissus de divers invertébrés en éléments organiques, vitamines, acides aminés et substances de croissance nous distinguons une partie constante et une partie variable des formules. Ce principe facilite particulièrement la mise au point des milieux.

— Partie constante pour tous les milieux :

A : Fraction organique
B : Antibiotiques
C : Sera

— Partie variable selon les types de milieux :

D : Fraction minérale
E : Fraction spéciale
F : Correction du pH.

Fraction A : Organique

De nombreuses expériences ayant montré que les formules qualitativement et quantitativement différentes de celles employées pour les cultures de cellules de vertébrés n'apportent pas d'amélioration sensible dans la culture de cellules de divers arthropodes, mollusques et coelentérés, nous proposons pour tous les milieux :

a) La partie organique, comprenant les acides aminés et les vitamines, de l'un des milieux de Vertébrés TC 199 ou milieu essentiel minimum de EAGLE (1959) ou autres. Actuellement on peut se procurer dans le commerce cette partie (complète) des milieux mentionnés indépendamment des autres parties.

Fraction B : Antibiotiques

Elle est facultative et à exclure des cultures destinées à l'étude des rickettsies ou des bactéries. Différentes compositions peuvent être utilisées. L'une des plus constante est :

a) Bacitracine.....	10	mg/100 ml
Pénicilline	12	—
Streptomycine	5	—
Colimycine	2,5	—

Fraction C : Sera

En principe on ne fait pas usage de sérum homologue des invertébrés dont les cellules sont cultivées, la préparation et l'obtention de quantités suffisantes de tels

sera présentant des difficultés souvent insurmontables. Toutefois dans les cas où les sera homologues peuvent être obtenus, il est souhaitable d'en ajouter. La formule actuellement le plus souvent employée est :

Sérum fœtal de bovidé filtré, sous forme lyophilisée à l'origine.

Fraction D : Solution minérale

Elle est la plus variable, car elle apporte l'équilibre et les rapports ioniques, eux-mêmes les plus variables chez les Invertébrés.

Il est possible d'utiliser les formules de solutions minérales mises au point pour certaines espèces d'invertébrés pour un groupe ayant des rapports ioniques semblables.

a) Ainsi les solutions minérales des formules VAGO-CHASTANG (1958), GRACE (1962); MITSUHASHI-MARAMOROSCH (1964), etc., peuvent être essayées pour des espèces voisines de celle pour laquelle elles ont été mises au point.

Toutefois, nous avons souvent constaté qu'une solution saline parfaitement bien équilibrée permet de meilleures prolifération et multiplication cellulaires qu'une formule fondée sur des données précises mais équilibrées d'une façon moins certaine. C'est pourquoi nous employons couramment, comme base de la Fraction D, la partie minérale de milieux largement expérimentés pour la culture de tissus de vertébrés.

b) Solution saline de milieux de vertébrés (par exemple TC 199 de MORGAN, MORTON et PARKER, 1950) ou Milieu essentiel minimum de EAGLE (1959), disponibles dans le commerce, prêtes à l'emploi, indépendemment des autres parties des mêmes milieux. Cette fraction est destinée aux cellules du groupe d'invertébrés ayant un rapport Na/K fortement supérieur à 1.

c) Mêmes solutions avec augmentation du taux de magnésium. Cette fraction est destinée aux cellules du groupe d'invertébrés en particulier des insectes, ayant un rapport Na/K supérieur à 1 avec un taux de magnésium élevé.

d) Solutions salines calculées à base de milieux de vertébrés mentionnés ci-dessus avec proportions inversées des ions de Na et K et augmentation du magnésium.

Par exemple :

NaCl	650	mg/l
KCl	3 000	—
Na_2HPO_4	90	—
KH_2PO_4	60	—
$MgSO_4$ 7 H_2O	4 950	—
$CaCl_2$ anhydre	140	—

De telles fractions, prêtes à l'emploi, sont applicables dans des cultures de cellules relatives aux espèces à rapport Na/K inférieur à 1.

e) Eau de mer, prélevée au large, dans des récipients préparés à cette fin et filtrée. Cette fraction est destinée aux cultures de cellules d'invertébrés marins.

Fraction E : Spéciale

Elle peut, en cas de besoin, apporter des substances nécessaires spécialement pour certaines espèces. Par exemple :

a) Hydrolysat de lactalbumine puriss. Il peut compléter pour les insectes, la quantité d'acides aminés insuffisante dans la fraction A, et règle en même temps la pression osmotique.

b) Glucose : Cette fraction peut apporter des glucides supplémentaires pour la culture de cellules de certains hymènoptères.

c) Yeastolate : Apporte un complément de vitamines et peut servir également au réglage de la pression osmotique.

Fraction F : Réglage du pH

a) $NaHCO_3$ sol.	5	p. 100
b) KOH sol.	5	—
c) NaOH sol.	5	—

DÉTERMINATION DES FRACTIONS

La partie constante des milieux [fraction organique (A), antibiotiques (B) et sérum (C)] entre invariablement dans tous les milieux. Afin de déterminer les fractions variables, pour une espèce d'invertébré donnée, on se base sur quelques caractères essentiels de la composition de l'hémolymphe :

— La catégorie du rapport Na/K = (supérieur, égal, inférieur à 1 ou marin) définit la fraction D.

— Le pH indique la correction nécessaire par addition de la fraction F. Selon la nature du rapport Na/K on utilise des substances à base de Na ou K.

— Le degré d'abaissement du point cryoscopique (Δt^0) doit être reconstitué dans le milieu par addition d'acides aminés par exemple, sous forme d'hydrolysat de lactalbumine ou de yeastolate (Fraction E).

— Enfin, il est utile de connaître si l'hémolymphe de l'espèce étudiée ne présente pas une particularité que l'on peut introduire dans le milieu par la fraction E.

MILIEUX

Tenant compte de ces définitions et en utilisant les fractions standard, plusieurs milieux ont été constitués et couramment employés pendant cinq ans dans notre laboratoire pour la culture de cellules d'invertébrés les plus variés. Rappelons la composition de quelques milieux le plus souvent employés.

1. *Partie constante, invariablement employée pour chaque milieu*

Fraction A :

Solution organique du TC 199 : 1,19 g/l
(ou Solution organique du M.E.M. Eagle : 0,853 g/l.)

Fraction B :

Facultative.

Fraction C :

Sérum de veau fœtal : 5 à 15 p. 100 du milieu total.

2. *Partie variable*

a) *Milieu 72.*

Fraction D :

Solution minérale du TC 199 : 8,89 g/l
(ou Solution minérale du M.E.M. Eagle : 7,725 g/l.)

Fraction E :

a) Hydrolysat de lactalbumine : quantité suffisante pour obtenir le Δt désiré

b) Glucose : 1,00 g/l.

Fraction F :

$NaHCO_3$ (5 p. 100) jusqu'à pH = 6,6 pour orthoptères ; 6,8 à 7 pour coléoptères ; 6,9 pour scorpions ; 7,2 pour dictyoptères et diptères ; 7,5 à 7,8 pour gastéropodes terrestres.

Ce milieu a permis l'obtention de cultures de cellules de la gaine ovarique, du cœur, de la paroi intestinale et de cellules embryonnaires de diptères, de dictyoptères (Pl. I, fig. 1-2), de coléoptères (Pl. I, fig. 3), d'orthoptères (Pl. III), d'hétéroptères hématophages, de gastéropodes terrestres (Pl. II, fig. 8) ou d'eau douce, de crustacés d'eau douce (Pl. II, fig. 6) et de scorpions (Pl. II, fig. 5) à rapport Na/K supérieur à 1. Certaines de ces cultures avec mitoses et repiquages sont maintenues depuis plus d'un an (VAGO, QUIOT et LUCIANI, 1968 ; PEPONNET et QUIOT, 1968).

b) *Milieu 11.*

Fraction D :

Solution minérale à rapport Na/K inférieur à 1, citée à D*d* : 8,89 g/l.

Fraction E :

a) Hydrolysat de lactalbumine : quantité suffisante pour obtenir le Δt désiré. Le plus souvent : 10,00 g/l.

b) Glucose : 1,00 g/l ; (pour cultures *Apis mellifica* en plus : 2,00 g/l.)

Fraction F :

KOH (5 p. 100) jusqu'à pH = 6,4 pour *B. mori* ; 6,8 pour *A. mellifica* ; 6,5 pour Homoptères.

Cette formule a été employée pour les cultures de cellules primaires ou de souches cellulaires provenant de gaines ovariques, du cœur, d'hémocytes, de cellules embryonnaires de Lépidoptères phytophages, d'homoptères et d'hyménoptères (Pl. I, fig. 4) à rapport Na/K inférieur à 1 (GIAUFFRET, QUIOT, VAGO et POUTIER, 1967 ; GIAUFFRET, QUIOT, VAGO et POUTIER, 1968 ; VAGO, QUIOT et LUCIANI, 1968).

c) *Milieu 5.*

Fraction D :

Eau de mer.

Fraction E :

Glucose : 1,00 g/l.

Fraction F :

$NaHCO_3$ (5 p. 100) jusqu'à pH = 7,5 pour la plupart des invertébrés marins.

Avec ce milieu ont été réalisées des cultures de cellules du cœur, du manteau et du pied de moules (Pl. II, fig. 7), d'huîtres et palourdes ainsi que de cellules de gonades d'oursins, d'étoiles de mer et d'holothuries, de glandes axiales et d'ampoules ambulacraires d'oursins, de l'appareil digestif d'étoiles de mer, d'holothuries, de crabes et d'oursins, de cœur de crabes, et de vésicules de Poli, de l'arbre respiratoire et de vaisseaux sanguins d'holothuries (QUIOT et RANNOU, 1968).

Tous les milieux sont filtrés à froid sur membrane « Millipore » de 0,45 μ et peuvent être conservés à 4°C pendant deux mois environ.

CONCLUSIONS

Il apparaît que, pour la culture de cellules d'invertébrés, il est souvent possible de se dispenser de milieux extrêmement adaptés à chacune des espèces et d'employer des formules-types, qui, grâce à la plasticité des cellules, sont fréquemment susceptibles d'assurer le développement *in vitro* des cellules d'un certain nombre d'espèces ayant des exigences essentielles semblables.

La simplicité de la préparation de tels milieux selon le principe de distinction d'une partie constante et d'une partie variable composées de fractions standard, peu nombreuses, pouvant se trouver prêtes à l'emploi dans le commerce, permet d'envisager la culture de cellules d'invertébrés variés dans un même laboratoire.

Les principes et les milieux dont il est question dans ce travail sont destinés à des cultures courantes en vue d'études pathologiques, virologiques ou d'autres recherches demandant un support de cellules d'invertébrés. En outre, ils rendent des services particuliers lorsqu'on cherche à obtenir, assez rapidement, des cultures cellulaires d'espèces dont les cellules n'ont pas encore été cultivées. Pour des études de physiologie cellulaire où l'on recherche particulièrement les besoins nutritionnels des cellules, il est souhaitable de réaliser des milieux très adaptés, d'après les analyses approfondies d'hémolymphe.

Enfin, le fait que certains des milieux développés dans ce travail soient très proches de ceux utilisés pour les cellules de vertébrés, facilitera probablement l'extension de l'usage des cultures de cellules d'invertébrés.

Reçu pour publication en juin 1969.

SUMMARY

RESEARCHES ON THE COMPOSITION OF MEDIA FOR INVERTEBRATE TISSUE CULTURE

The increasing use of invertebrate tissue cultures and the very wide range of species the cell culture of which should be performed lead us to carry out intensive studies on standardization of media.

On the base of Na/K ratio, Mg rates Δt value and hemolymph pH was established a system of formulation allowing the cultivation of numerous species whose cells have similar basic needs.

Media comprise a constant share including organic fractions, antibiotics and sera and a variable share including mineral fractions, pH and Δ t regulation, and eventually specific supplements.

In the constant share, amino acid and vitamin formulae are those established for vertebrate tissue culture.

These media and the cell lines made possible the obtention of extended cell cultures from many invertebrate species belonging to various orders.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

EAGLE H., 1959. Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. *Science*, **130**, 432.

GIAUFFRET A., QUIOT J.-M., VAGO C., POUTIER F., 1967. Culture *in vitro* de cellules de l'Abeille. *C. R. Acad., Sci.*, **265**, 800-803.

GIAUFFRET A., QUIOT J.-M., VAGO C., POUTIER F., 1968. Cultures cellulaires d'*Apis mellifica*. *Proc. 2 internation. Coll. Invert. Tissue Cult.*, Milan, Sept. 1967, 74-80.

GRACE T. D. C., 1962. Establishment of four strains of cells from insect tissues grown *in vitro*. *Nature*, **195**, 788-789.

MITSUHASHI J., MARAMOROSCH, K., 1964. Leafhopper tissues culture : embryonic, nymphal and imaginal tissues, from aseptic insects. *Contrib. Boyce Thompson. Inst.*, **22**, 435-460.

MORGAN J. P., MORTON H. J., PARKER R. C., 1950. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, **73**, 1.

PEPONNET F., QUIOT J.-M., 1968. Culture de cellules de Scorpions. *C. R. Acad. Sci.*, **266**, 1589-1592.

QUIOT J.-M., RANNOU M., 1968. Cultures cellulaires d'Echinodermes en milieu semi-synthétique. *Ann. Soc. Zool.* (sous presse).

QUIOT J.-M., VAGO C., LUCIANI J., 1968. Culture *in vitro* de cellules de crustacés. *Proc. 2 internation. Coll. Invert. Tissue Cult.*, Milan, sept 1967, 102-109.

VAGO C., CHASTANG S., 1958. Obtention de lignées cellulaires en culture de tissus d'Invertébrés. *Experientia*, **14**, 110.

VAGO C., QUIOT J. M., LUCIANI J., 1968. Culture de cellules cardiaques d'Invertébrés. *Proc. 2nd internation. Coll. Invert. Tissue Cult.*, Milan, Sept 1967, 110-118.

WYATT S. S., 1956. Culture *in vitro* of tissue from the silkworm *Bombyx mori* L. *J. gen. Physiol.*, **39**, 849-852.

PLANCHE I

Cultures de cellules de Dictyoptères, Coléoptères et Hyménoptères.

FIG. 1

Souche de cellules cardiaques de larve de *Leucophaea maderae* dans milieu 72. Contraste de phase × 175.

FIG. 2

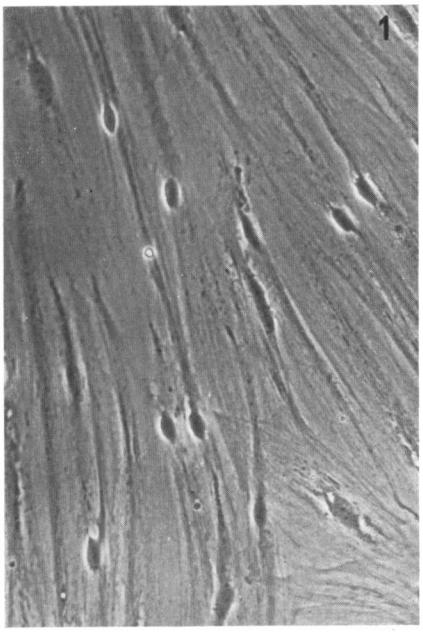
Culture de 3 mois de cellules cardiaques de larves de *Blabera fusca* dans milieu 72. Contraste de phase × 175

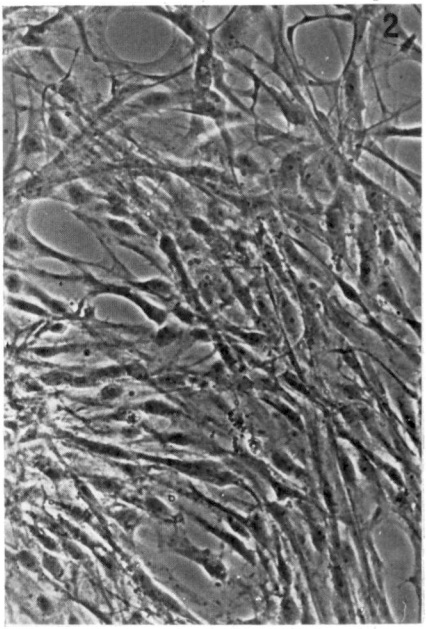
FIG. 3

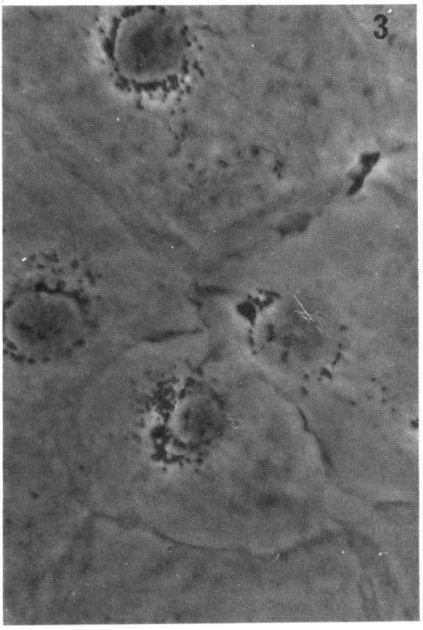
Culture de 3 mois de cellules cardiaques de larves de *Melolontha melolontha* dans milieu 72. Contraste de phase × 530

FIG. 4

Culture de 2 mois de cellules embryonnaires d'*Apis mellifica* dans milieu 11. Contraste de phase × 530.







C. VAGO et J.-M. QUIOT

PLANCHE II

Cultures de cellules d'arachnides, de crustacés, de mollusques marins et terrestres :

FIG. 5

*Culture de 3 mois de cellules de la glande lymphoïde d'*Androctonus australis *adulte dans milieu 72.* Contraste de phase × 345.

FIG. 6

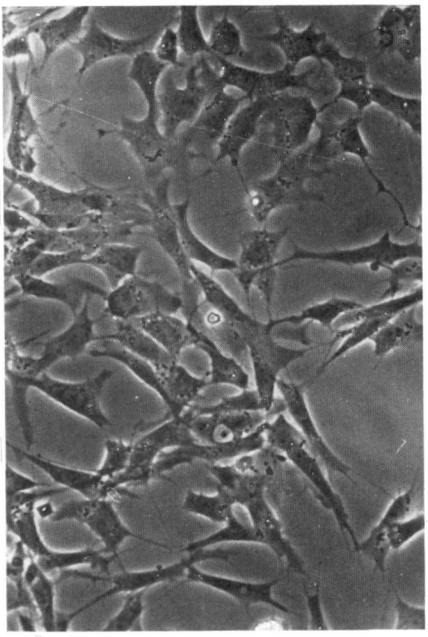
*Culture de 2 mois de cellules embryonnaires d'*Astacus pallipes *dans milieu 72.* Contraste de phase × 330.

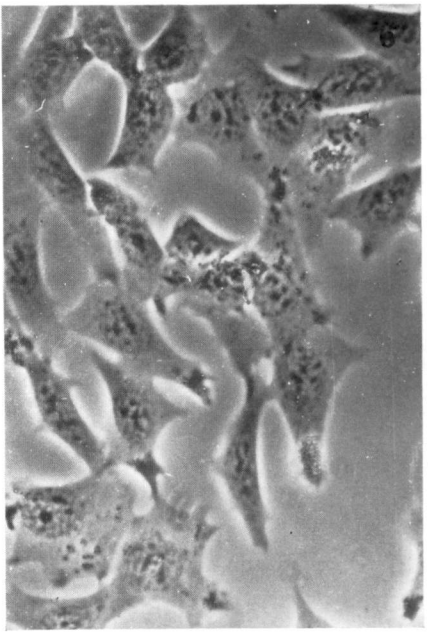
FIG. 7

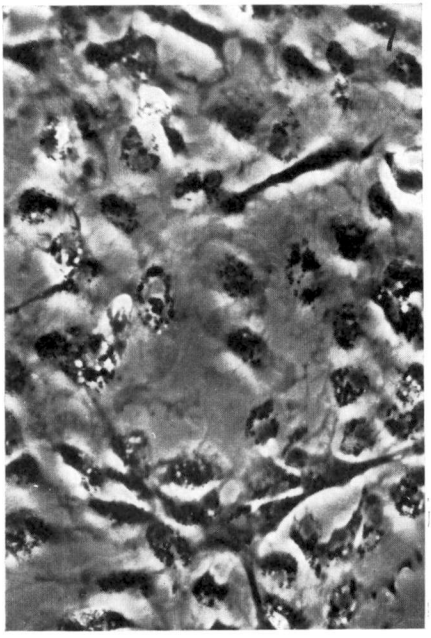
Culture de 1 mois de cellules cardiaques de Mytilus gallioprovincialis *dans milieu 5.* Contraste de phase × 330.

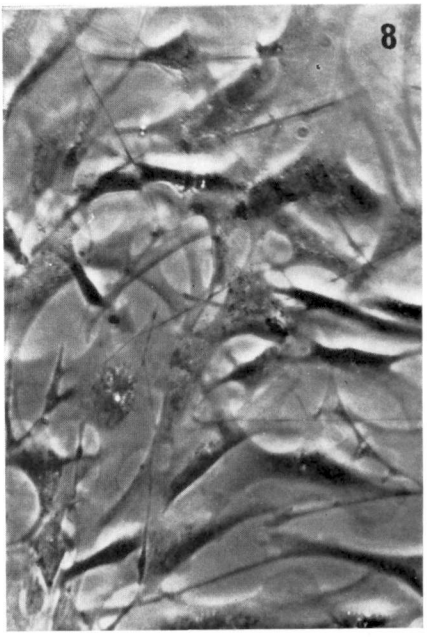
FIG. 8

*Culture de 2 mois de cellules cardiaques d'*Helix aspersa *adulte dans milieu 72.* Contraste de phase × 330.









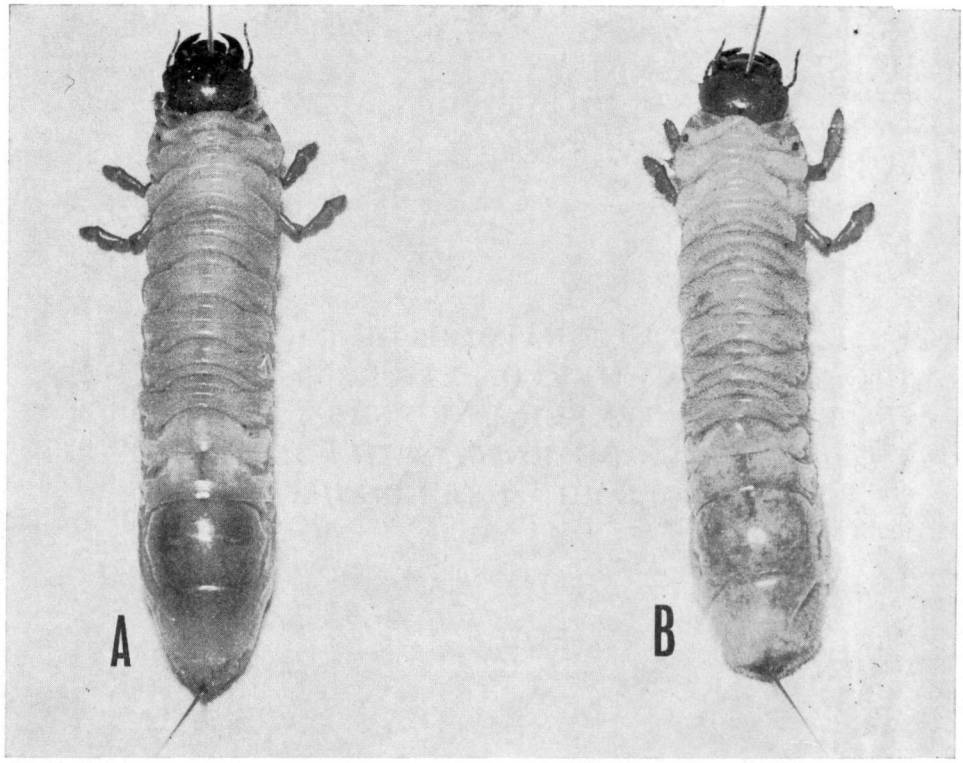
C. VAGO et J.-M. QUIOT

PLANCHE III

Culture de cellules cardiaques de larves de Schistocerca gregaria âgée de 2 mois (souche cellulaire dans milieu 72).

Phases successives de 2 mitoses simultanées.

Contraste de phase × 480.



A : *larve saine*
B : *larve du troisième stade présentant les symptômes caractéristiques de la virose à* Vagoiavirus melolonthae
Cliché La Minière - Photo. J. NIORÉ

FIG. 1.

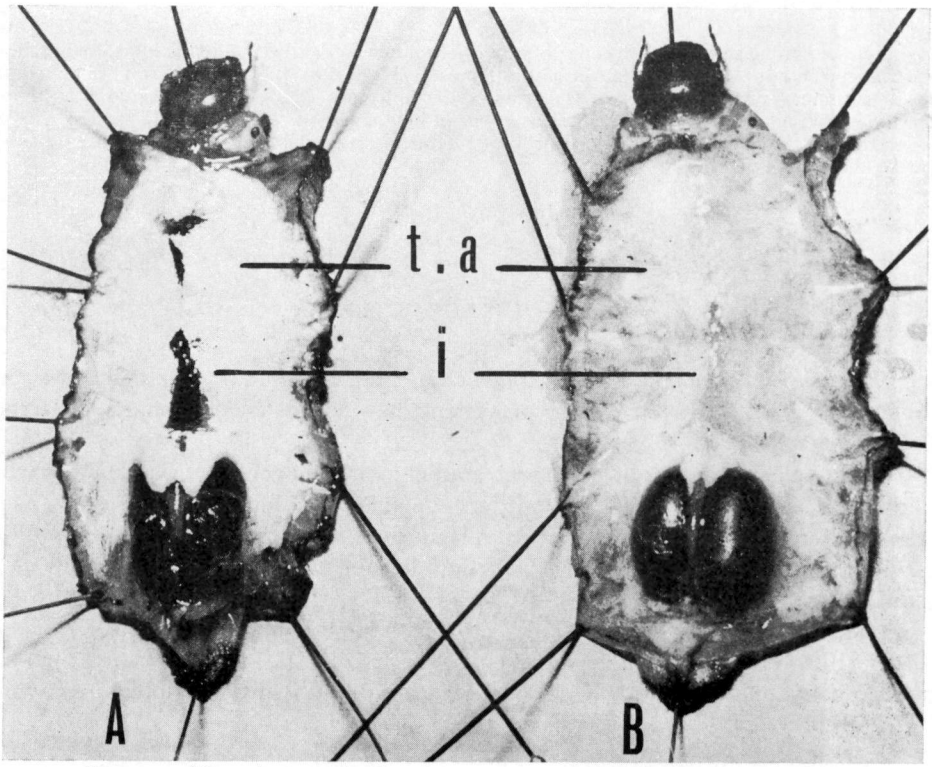


FIG. 2. — *Mêmes larves après dissection*

t.a. tissu adipeux I. intestin

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 289-307.

ÉTUDE EN LABORATOIRE DE L'INFLUENCE DU STADE LARVAIRE, DE LA QUANTITÉ DE VIRUS ET DE LA TEMPÉRATURE SUR LA VIROSE A *VAGOIAVIRUS* DE *MELOLONTHA MELOLONTHAL.* (COLÉOPT. *SCARABAEIDAE*)

P. H. ROBERT

Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocœnotique,
78 - La Minière par Versailles
Institut national de la Recherche agronomique

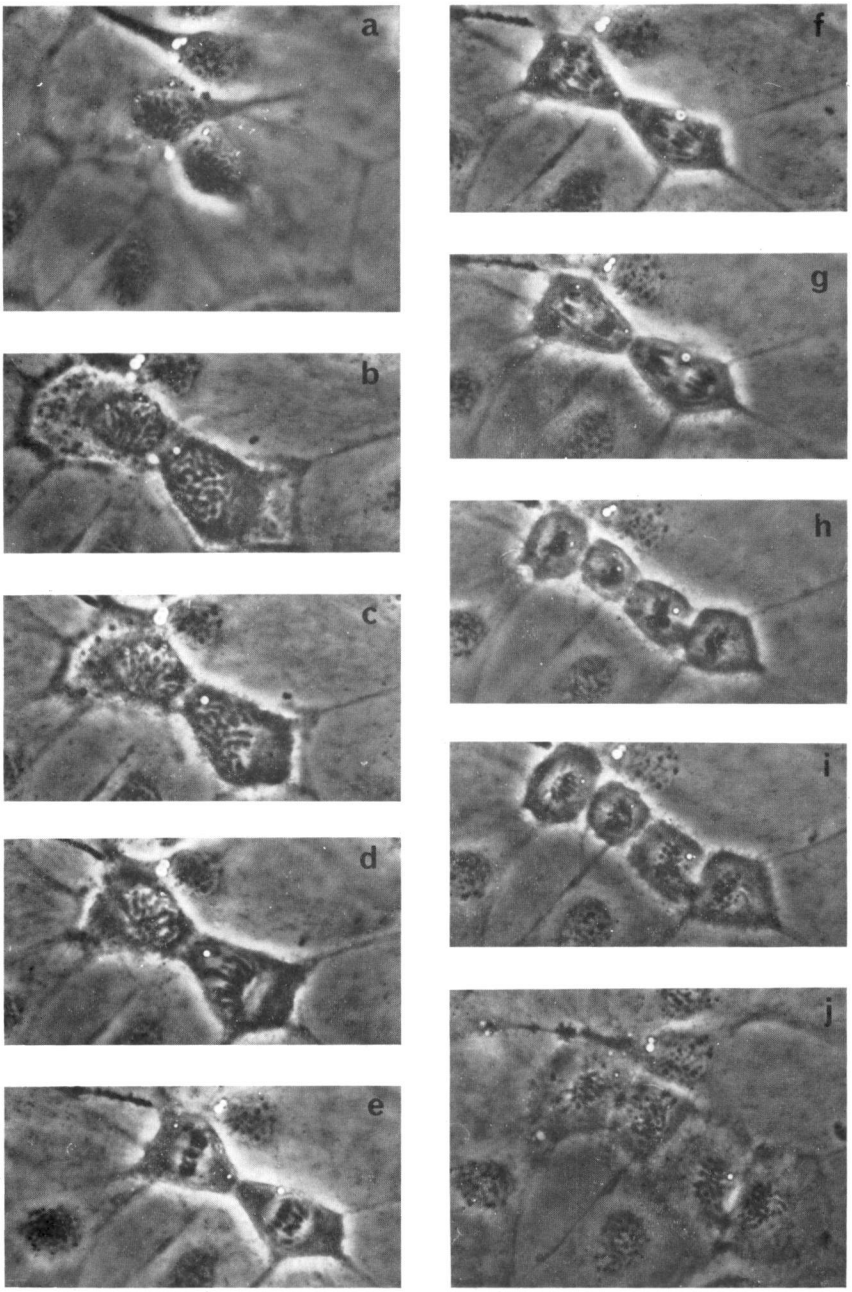
SOMMAIRE

La virose cytoplasmique à *Vagoiavirus melolonthae* a fait l'objet d'études en laboratoire des facteurs susceptibles de déterminer l'infection des larves de *Melolontha melolontha*. Parmi ces facteurs, nous nous sommes proposés de définir la sensibilité des différents stades larvaires à la maladie, l'influence de la dose sur la mortalité des larves et sur la mue, ainsi que la quantité de matière active nécessaire pour provoquer 50 p. 100 de morbidité ; le rôle de la température et de la nature du substrat a été également étudié.

I. — INTRODUCTION

La virose à *Vagoiavirus melolonthae* a été trouvée en 1961 chez des larves du Hanneton commun (*M. melolontha*) provenant de sondages effectués dans la Sarthe (HURPIN et VAGO, 1963).

Les insectes malades ont un aspect granuleux et une couleur gris bleuté, particulièrement au niveau de l'avant-dernier segment abdominal (fig. 1). En fin d'évolution de la maladie, l'hôte présente un relâchement musculaire total ; il cesse toute activité et ne s'alimente plus. A la dissection, le tube digestif est pratiquement vide et on constate un début de lyse des cellules adipeuses (fig. 2). L'examen microscopique de l'hémolymphe et des cellules adipeuses montre un grand nombre d'inclusions fusiformes de tailles diverses, depuis une fraction de micron jusqu'à certains fuseaux pouvant atteindre 9 μ de long et des corps d'inclusion globulaires ayant



C. VAGO et J.-M. QUIOT

jusqu'à 14 μ de diamètre (fig. 3) (AMARGIER, VAGO et MEYNADIER, 1964). La nature virale de la maladie a été établie après études en microscopie électronique par VAGO (1963).

Ce type de virus, inconnu chez les Invertébrés par sa morphologie, a permis de faire un certain rapprochement avec les virus du type Variole-Vaccine (VAGO et CROISSANT, 1964).

WEISER (1965) a proposé de créer le genre *Vagoiavirus* pour cette nouvelle catégorie de virus d'insecte, *Vagoiavirus melolonthae* étant le premier décrit. Depuis, d'autres maladies du même type ont été signalées : chez *Cossus cossus* L. (*Lepidop-*

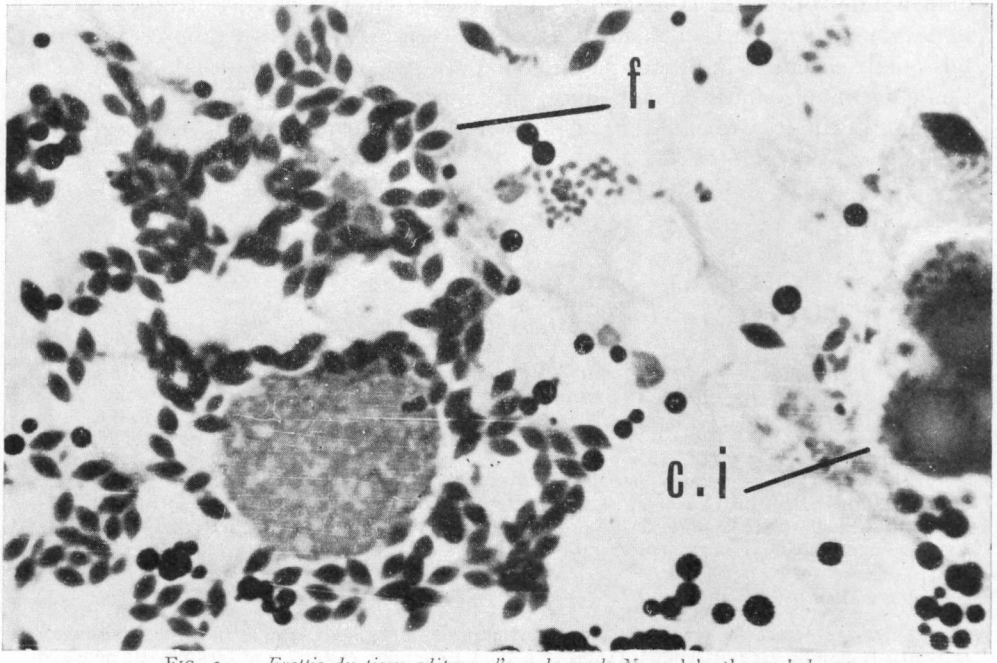


FIG. 3. — *Frottis du tissu adipeux d'une larve de* M. melolontha *malade*
Coloration Bleu de méthylène de Loëffler. 1 250 X
F : fuseaux Ci : corps d'inclusion
Clichés La Minière Photo. J. NIGRÉ

tera Cossidae) par VIDENOVA et SENGALEVICH (1966), *Operophtera brumata* HÜBNER (*Lepidoptera Geometridae*) par WEISER et VAGO (1966), *Oreopsyche angustella* H. S. (*Lepidoptera Psychidae*) par MEYNADIER, FOSSET, VAGO, DUTHOIT et BRÈS (1968) et pour les Coléoptères chez un Lucanide de Madagascar, *Figulus* sp. par VAGO, MONSARRAT, DUTHOIT, AMARGIER, MEYNADIER et WAEREBEKE (1968) ainsi que chez un Scarabéide d'Amérique du Sud, *Demodena boranensis* BRUCH. par VAGO, AMARGIER, HURPIN, MEYNADIER et DUTHOIT (1968).

Un programme de recherches concernant différents aspects de la cytopathologie ainsi que des problèmes de physiopathologie dans l'hôte est en cours à la Station de Recherches cytopathologiques de Saint-Christol-les-Alès (I. N. R. A.) sous la direction du Pr VAGO.

Parallèlement, à la Station de La Minière, nous avons entrepris l'étude de quel-

ques facteurs écologiques susceptibles d'intervenir dans la maladie. Nos expériences ont été conduites en fonction des connaissances acquises tant sur la biologie du ravageur, dont une synthèse a été faite par HURPIN (1962), que sur les propriétés microbiologiques de germes isolés de *M. melolontha*, tels que la bactériose à *Bacillus popilliae* « *Melolontha* » (HURPIN, 1959-1967), la rickettsiose à *Rickettsiella melolonthae* KRIEG (HURPIN, 1964-1965), la nosémose à *Nosema melolonthae* KRIEG (KHARAZI, 1967) ou la mycose à *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO (FERRON, 1967).

Seules seront exposées ici des expériences concernant l'étude de certains facteurs déterminant l'infection des insectes par le virus : étude de facteurs liés à l'hôte influence de la dose sur la morbidité, influence du substrat ou de la température sur le développement de la maladie. L'étude de certains caractères propres au germe, tels que la spécificité à l'égard de différents insectes ou la résistance du virus à l'action d'agents physiques ou chimiques, ainsi que la conservation de la virulence dans le temps ayant été présentés par ailleurs (HURPIN et ROBERT, 1967 ; ROBERT, 1969).

II. — MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

1. *Modes de traitements*

Trois techniques de traitement ont été expérimentées : inoculation dans la cavité générale, ingestion forcée dans l'œsophage et contamination du substrat d'élevage.

a) *Inoculation.*

Les inoculations sont faites chez des larves au 3e stade à l'aide d'une seringue hypodermique de 1 ou 2 ml, graduée au 1/20 de ml. La quantité de suspension injectée par voie intradermique est de 0,1 ml à l'aide d'une aiguille de 15/4 au niveau de l'antepénultième stigmate; au préalable, les larves sont désinfectées par un coton imbibé d'alcool à 90°.

b) *Ingestion forcée.*

L'ingestion forcée est pratiquée avec le même type de seringue et la même dose de suspension (0,1 ml). L'aiguille est plus longue (30/6) et à bout rodé pour éviter toute blessure au niveau des pièces buccales ou de l'intestin antérieur. Afin de permettre des répétitions d'expérience dans le temps dans des conditions aussi identiques que possible, nous utilisons des larves au 3e stade ayant subi la mue depuis moins d'un mois. D'autre part, le recours à des larves L_3 jeunes permet la multiplication du germe avant la nymphose, qui s'effectue généralement 7 à 8 mois plus tard, à 25°C.

c) *Contamination du substrat.*

C'est la méthode de traitement qui se rapproche la plus des conditions naturelles, les larves se contaminant après ingestion du substrat.

Elle est effectuée à l'aide d'un mélangeur pétrisseur électrique permettant de conditionner assez rapidement le volume de milieu nécessaire pour 25 boîtes d'élevage. La matière infectante, présentée sous forme de broyat, est incorporée au substrat sec.

2. *Conditions expérimentales*

Les larves ont été élevées individuellement dans des boîtes non aérées en polystyrène de 80 ml (50 × 40 mm) pour les larves des deux premiers stades, et de 240 ml (80 × 50 mm) pour les larves du 3e stade. Ces récipients étaient remplis aux 2/3 de tourbe humidifiée dans la proportion approximative de 200 ml d'eau pour 100 g de tourbe sèche.

L'alimentation des larves a été assurée soit à l'aide de racines de Pissenlit (*Taraxacum densleonis* DESF.) soit de morceaux de carottes (*Daucus carota* L.).

Les lots étaient composés généralement de 10 larves pour les inoculations et les ingestions for-

cées et de 20 ou 25 larves pour les contaminations du substrat. En général, les larves ont été élevées dans de la tourbe, à 20 ou 25°C.

Lorsqu'une expérience comprenait plusieurs lots de larves, des lots non traités permettaient de comparer l'efficacité des préparations.

Les contrôles ont été effectués toutes les deux semaines pour noter les mues, l'état des larves, l'évolution des symptômes, renouveler l'aliment et également changer le substrat si nécessaire.

Pour chaque insecte mort en cours d'expérimentation, un prélèvement d'hémolymphe et de tissu adipeux a été effectué. Après coloration au bleu de méthylène de Loëffler, le frottis était examiné au microscope afin de préciser les causes de la mort.

III. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES CONDITIONS D'INFECTION

1. *Facteurs liés à l'hôte*

a) *Influence du stade larvaire.*

Nous avons en premier lieu examiné la réceptivité des larves en fonction de leur état physiologique. Des larves au 2e et au 3e stade, pour ces dernières à deux stades physiologiques différents (avant et après hibernation) furent élevées dans un milieu contaminé avec une même dose de virus. La proportion de larves malades a été plus importante pour les larves traitées en L_2 (60 p. 100) que pour les L_3 avant hibernation (24 p. 100) ou après hibernation (12 p. 100).

TABLEAU I

Devenir de lots de 25 larves des trois stades élevées dans de la tourbe contaminée par deux doses de virus

Dose de virus	1 larve malade pour 10 litres			2 larves malades pour 1 litre		
Stade mis en élevage	L_1	L_2	L_3	L_1	L_2	L_3
Insectes malades	11 L_3 + 7 L_3	5 L_2 + 17 L_3	14 L_3	2 L_1 + 11 L_2	2 L_2 + 10 L_3	25 L_3
Autre mortalité	6 L_1	2 L_2	4 L_1 + 2 N	12 L_1	11 L_2 + 2 L_3	0
Survivants	1 L_3	1 L_3	2 L_3 + 2 PN 1 IP	0	0	0

Dans le premier cas la maladie s'est développée principalement chez des larves au 3e stade, alors que pour les larves traitées en L_3 quelques cas de virose ont été observés pendant la nymphose.

Nous avons, au cours d'une autre expérience par contamination de la tourbe à 20°C, comparé la sensibilité de larves des 3 stades (L_1-L_2-jeunes L_3) élevées dans

de la tourbe contaminée à une dose faible (1 larve malade pour 10 litres), et à une dose plus élevée (2 larves malades pour 1 litre). Avec la première dose, la proportion de larves malades pour les deux premiers stades est plus importante (18 et 22 larves) que pour les larves au 3e stade (14 larves). Par contre, une dose plus forte de virus a provoqué une mortalité importante chez les deux premiers stades larvaires (tabl. 1).

Afin de préciser la sensibilité des larves à la maladie, nous avons contrôlé la rapidité de l'infection chez des L_2 et des L_3 venant de subir la seconde mue. Le milieu était contaminé à la dose de 1 larve malade pour un litre de substrat.

Les larves ont été maintenues dans le substrat infecté pendant plusieurs jours ou plusieurs semaines, puis remises en élevage dans de la tourbe saine (fig. 4). Comme le montre cette figure, les larves du 2e stade sont plus sensibles que les autres à la maladie, après 24 heures de contact, 6 larves sur 10 ont été malades, alors que pour les larves contaminées au 3e stade le délai est plus long.

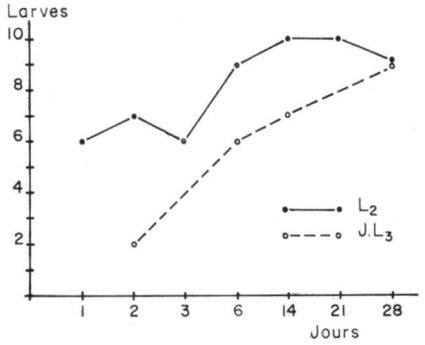


FIG. 4. — *Cas de virose selon la durée de l'élevage dans le substrat contaminé à 20°C*

b) *Développement de la virose chez les adultes.*

Par contamination du substrat *Vagoiavirus melolonthae* se développe dans tous les stades larvaires de *M. melolontha* et l'évolution de la maladie peut se poursuivre au cours de la nymphose, surtout si la contamination a été faite en fin de vie larvaire; mais la mort de l'insecte se produit généralement avant le stade imaginal. Jusqu'à présent, parmi de nombreux adultes examinés, deux seulement étaient malades. Cependant, le développement de la virose chez l'imago peut être provoqué après inoculation de larves âgées du 3e stade. Ainsi pour certaines, la nymphose a commencé dès la troisième semaine après le traitement, et au cours des deux semaines suivantes nous avions 36 prénymphes et 3 nymphes. Mais toutes moururent de la virose dans les deux semaines qui suivirent.

Nous avons recommencé l'expérience en inoculant 14 prénymphes et 20 nymphes. Après une mortalité assez importante (environ 50 p. 100) provoquée par l'injection, nous avons obtenu, 2 mois après, 11 adultes (6 mâles et 5 femelles).

A la suite d'un séjour de 2 mois à 13°C, température de diapause permettant l'évolution des ovocytes, les adultes furent placés à 20°C dans une cage d'élevage dont le fond était garni de terre. Les hannetons soumis à un éclairement de 3 000 lux pendant 16 heures par jour ont été alimentés avec de jeunes pousses de chêne issues de glands forcés en serre. Au cours des deux premières semaines, 3 femelles et les

6 mâles moururent, puis au cours des deux semaines suivantes, les deux autres femelles. L'examen microscopique révéla une multiplication importante de virus dans tous les adultes.

La contamination des larves par le chorion est peu probable celles-ci, contrairement à beaucoup d'insectes, ne consommant pas le chorion à l'éclosion. Sur 50 œufs (embryons à 24 heures de l'éclosion) immergés pendant 1 heure dans une suspension très riche en virus, additionnée d'un mouillant (Novémol à 2 p. 1 000) aucun cas de virose ne fut observé. La mortalité des larves issues de ces œufs a été analogue dans tous les lots ; après 3 mois d'élevage elle était de 36 p. 100 pour le lot traité et de 24 et 32 p. 100 pour les témoins.

2. *Influence de la dose de virus*

Les prélèvements que nous effectuons chez les larves malades renferment aussi bien des virus inclus dans les corps ovoïdes que des virus libres que nous ne pouvons pas compter.

Aussi, nous avons cherché à déterminer le pouvoir infectieux de vers blancs malades par un titrage biologique, par inoculation ou ingestion forcée à des larves du 3e stade, et par contamination du substrat d'élevage pour les trois stades larvaires. Nous avons tenté de déterminer pour chaque stade une dose donnant 50 p. 100 de larves malades (DV_{50}). Cette méthode n'a évidemment qu'une valeur arbitraire, elle est employée dans l'attente d'une autre technique de titrage adaptée à ce germe.

Nous avons seulement considéré la morbidité et volontairement éliminé les larves mortes sans la présence du germe. D'une part, cette mortalité a été très variable au cours des différents essais, aussi bien dans les lots témoins que dans les lots traités, de sorte qu'il ne paraît pas possible d'établir une relation entre cette mortalité qui se manifeste par la prolifération de bactéries et le traitement par le virus. D'autre part, si l'incubation du germe provoque la mort de la larve, cette dernière ne peut devenir un foyer d'éléments infectieux pour d'autres larves, et le but du traitement n'est alors que partiellement atteint.

a) *Détermination de la* DV_{50}.

1. *Essais par inoculation.*

Nous avons étudié l'influence de la dilution de l'inoculum en utilisant une progression géométrique. La suspension « mère », constituée par l'hémolymphe et le tissu adipeux d'une larve malade, prélevés avec toutes les précautions d'asepsie, était, après homogénéisation dans 10 ml d'eau stérile, diluée de 10 fois en 10 fois et inoculée à raison de 1/10 ml par larve.

La figure 5 présente les résultats de deux essais. Elle montre que toutes les larves traitées ont été malades jusqu'aux dilutions de 10^{-8} et 10^{-9}, et environ la moitié aux dilutions 10^{-12} et 10^{-13}, toutefois des cas de viroses ont été encore enregistrés à 10^{-16} et 10^{-17}.

On peut supposer, à la lecture de ces résultats, que peu de particules virales sont suffisantes pour provoquer la maladie. Ainsi que le fait remarquer Dufrénoy (1967) « si grande que soit la dilution du matériel infectieux, le risque pour une larve d'être infectée par une unité de virus ne devient jamais théoriquement nul ».

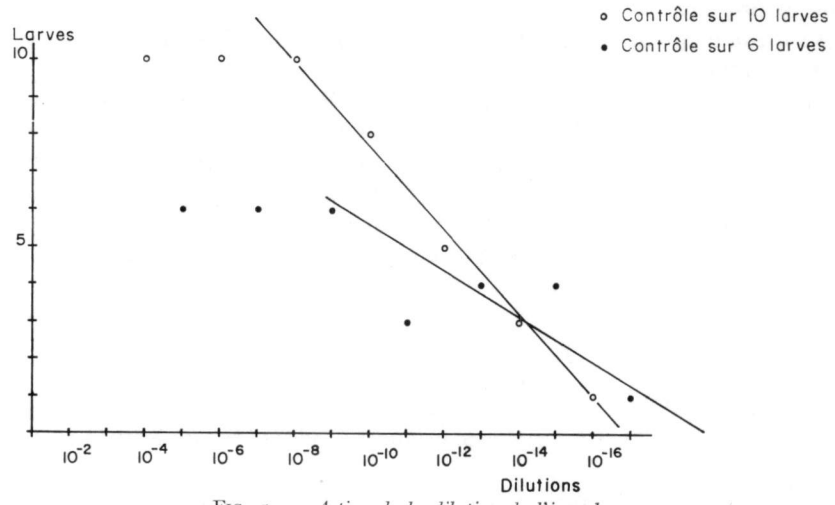


FIG. 5. — *Action de la dilution de l'inoculum*

2. *Essais par ingestion forcée.*

La même technique de préparation des dilutions a été employée, la suspension mère étant constituée par le broyat d'une larve malade dans 10 ml d'eau (Dilution D1). D'après 10 essais successifs, la figure 6 montre que la DV_{50} se situe entre 10^{-2}

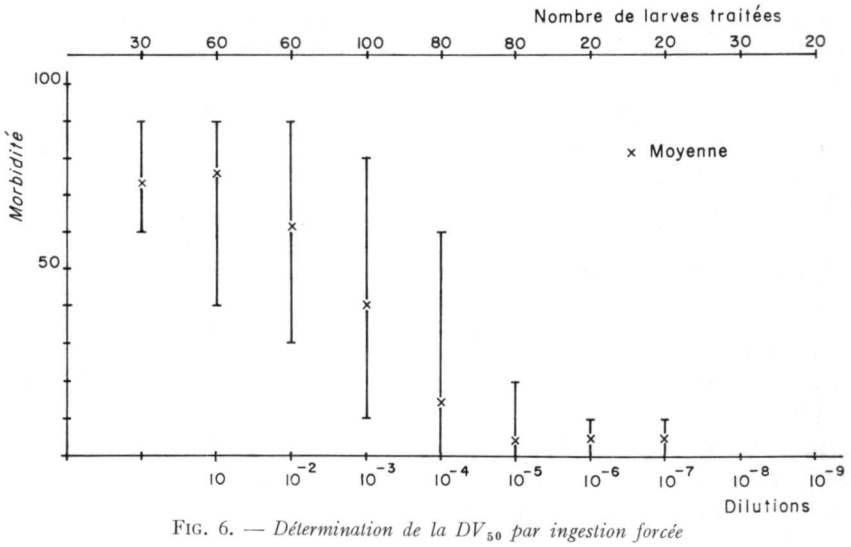


FIG. 6. — *Détermination de la DV_{50} par ingestion forcée*

et 10^{-3}. On note cependant encore une larve malade à 10^{-1} et une autre à 10^{-7}.

En outre, il apparaît que ni l'origine de l'inoculum, ni les délais d'incubation, ne semblent avoir une influence sur la virulence.

3. *Essais par contamination du substrat.*

Dans une première série d'expériences, des larves des trois stades larvaires ont été élevées à 20° et 25°C dans de la tourbe à laquelle avait été ajoutée une quantité

de matière active correspondant respectivement à 1/10, 1/5, 1/2, 1/1, 2/1 et 4/1, (dose exprimée sous forme d'une fraction correspondant au nombre de larves malades pour une quantité de tourbe en litres). Pour chaque stade larvaire, un seul broyat était préparé pour les différents lots composés de 25 larves (tabl. 2).

TABLEAU 2

Cas de virose et mortalité selon le stade mis en élevage et la quantité de virus mélangée à la tourbe

Traitement	L_1		L_2		L_3	
	Larves malades	Autre mortalité	Larves malades	Autre mortalité	Larves malades	Autre mortalité
	Élevage à 20°C					
Témoin	0	9	0	7	0	4
1 larve malade/20 l de tourbe	0	0	0	0	8	11
1 larve malade/10 l de tourbe	18	6	22	2	14	6
1 larve malade/5 l de tourbe	17	8	23	2	14	5
1 larve malade/2 l de tourbe	7	18	23	2	20	4
1 larve malade/1 l de tourbe	10	15	23	2	24	1
2 larves malades/1 l de tourbe	13	12	12	13	25	0
4 larves malades/1 l de tourbe	8	17	13	12	23	2
	Élevage à 25°C					
Témoin	0	13	0	8	0	2
1 larve malade/20 l de tourbe	0	0	0	0	15	6
1 larve malade/10 l de tourbe	20	5	25	0	21	2
1 larve malade/5 l de tourbe	17	8	21	4	18	3
1 larve malade/2 l de tourbe	14	11	22	3	25	0
1 larve malade/1 l de tourbe	8	17	25	0	23	2
2 larves malades/1 l de tourbe	9	16	24	1	25	0
4 larves malades/1 l de tourbe	6	19	17	8	25	0

Dans les lots traités, la mortalité a été presque totale pour les larves aux 1er et 2e stades, la proportion de larves malades diminuant lorsque la concentration de germes augmente, au profit de la mortalité totale. Pour les larves au 3e stade, la mortalité a été totale pour les 3 plus fortes doses. Aux doses les plus faibles la proportion de larves malades s'est trouvée réduite du fait de la mortalité due à d'autres origines et un certain nombre de survivants ont été notés.

La mortalité ayant été pratiquement totale, principalement pour les deux premiers stades larvaires, nous avons repris cette expérimentation à 20°C en échelonnant la richesse du substrat de 1 larve malade pour 2 litres de tourbe à 1 larve malade pour 160 litres, avec 5 doses intermédiaires (1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80).

Après 52 semaines d'élevage, nous avons observé pour les larves traitées au 1er stade un développement de la virose en corrélation étroite avec la dose (fig. 7). Dans tous les cas, la mortalité due à d'autres causes que le virus est demeurée assez faible (15 p. 100) et inférieure à celle des témoins (24 p. 100 et 20 p. 100). A la dose la plus faible (1/160), nous avons encore obtenu 8 larves malades sur 25.

La proportion de larves malades est moins régulière pour les larves traitées au 2e stade (fig. 7). Néanmoins, pour la dose la plus faible, on trouve encore après 41 semaines d'élevage 13 larves malades sur 25.

A titre de comparaison, avec des larves contaminées dans les mêmes conditions et élevées à 25°C, pour cette même dose, nous avons noté 12 larves malades sur 25. Cette dose provoque dans les deux cas 50 p. 100 de maladie. Dans d'autres expériences réalisées dans les mêmes conditions des résultats analogues ont été observés. Pour des L_2 et L_3, aux doses de 1/40 et 1/80, nous avons noté respectivement 8 et 5 larves malades pour les L_2 contre 6 et 7 malades pour les L_3 ; les larves survivantes ayant été respectivement 10, 15 et 11, 12 pour des lots de 25 larves.

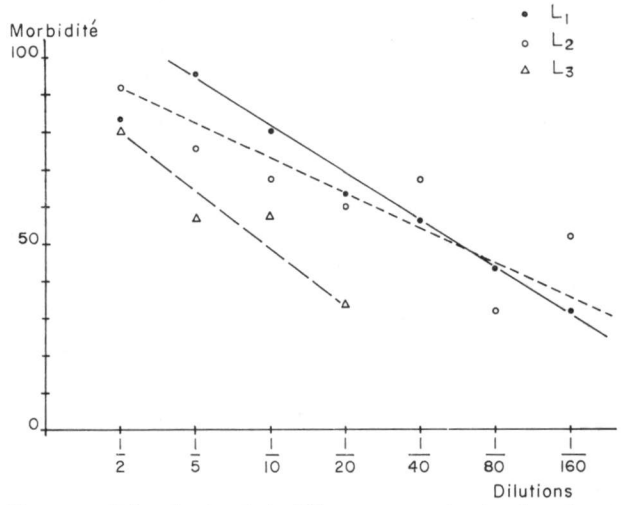


FIG. 7. — *Détermination de la DV_{50} par contamination du substrat*

Malgré la variabilité des résultats obtenus, la DV_{50} pour les larves des deux premiers stades peut se situer aux environs de 1 larve du 3e stade malade pour 60 à 100 l de tourbe. Tandis que pour les larves du 3e stade, elle est approximativement de 1 L_3 malade broyée dans environ 10 l de tourbe, soit une dose 6 à 10 fois plus élevée que pour les L_1 et les L_2.

Ces expériences ont mis également en évidence certains phénomènes dans l'évolution de la maladie qui paraissent dépendre plus ou moins étroitement de la dose de germes incorporés au milieu d'élevage. Il s'agit notamment de la rapidité de développement de la maladie, du stade où la mortalité se manifeste, ainsi que des possibilités de mue des insectes infectés.

b) *Action sur le développement larvaire et les mues.*

La figure 8 représente quantitativement l'influence de la dose sur la morbidité chez des larves des deux premiers stades élevées à 20°C et 25°C dans un substrat contaminé. Nous voyons que le nombre de larves malades est en corrélation avec la quantité de germes incorporés au substrat ; ainsi, toujours pour une mortalité totale, nous constatons que pour les L_1 la morbidité n'a été que de 32 p. 100 à la plus forte dose, alors que pour une dose 40 fois plus faible elle est passée à 72 p. 100. Ce même phénomène est observé pour les larves au 2e stade où, pour des doses identiques, la morbidité est passée de 32 à 88 p. 100.

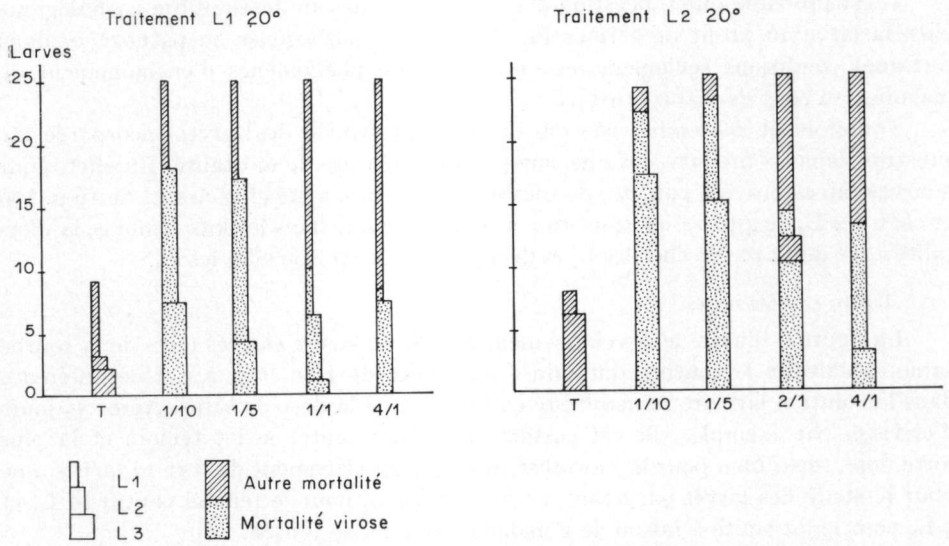


FIG. 8. — *Influence de la dose sur la mortalité totale par contamination de la tourbe*

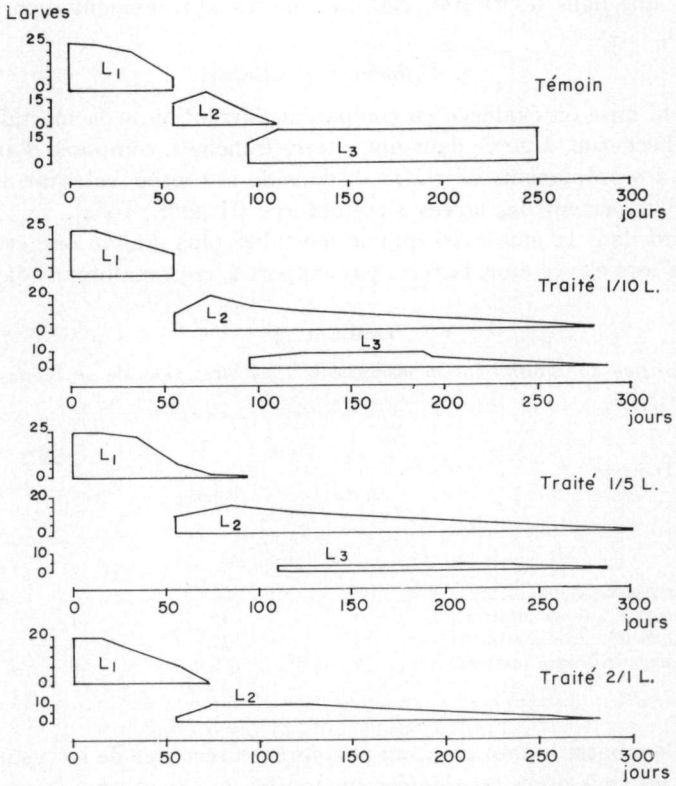


FIG. 9. — *Influence de la dose sur les mues*
Larves au 1er stade traitées par contamination de la tourbe à 20°C

Il est probable que l'ingestion des virus provoque un déséquilibre pathologique chez la larve au profit de germes facultativement pathogènes ou pathogènes dans certaines conditions seulement, et qu'il s'agit de phénomènes d'enchaînement de maladies au sens de VAGO (1956).

Toutefois, il ne semble pas que la flore intestinale des larves incorporée au substrat dans les broyats soit une cause supplémentaire de mortalité. En effet, pour 5 larves saines broyées par litre de tourbe, la mortalité a été chez des L_2 de 16 p. 100 et chez des L_3 de 4 p. 100 et 16 p. 100, à 20°C, alors que dans les lots témoins, la mortalité a été de 12 p. 100 chez les L_2 et de 4 p. 100 et 12 p. 100 chez les L_3.

Action sur les mues.

La figure 9 illustre le développement à 20°C de larves élevées dans de la tourbe saine et dans de la tourbe contaminée aux doses de 1/10, 1/5, 2/1. Une différence dans l'évolution larvaire se manifeste en fonction de la dose de virus. Après 55 jours d'élevage, par exemple, elle est surtout importante entre le lot témoin et la plus forte dose, aussi bien pour la mortalité qui est respectivement de 6 et 12 larves, que pour le stade des larves survivantes : 7 L_1 et 12 L_2 pour le témoin contre 10 L_1 et 3 L_2 pour le lot traité à raison de 2 malades pour 1 l de tourbe.

Avec le temps, l'évolution larvaire est progressivement ralentie et après 110 jours, toutes les larves survivantes étaient au 3e stade dans le lot témoin (18 larves) alors que dans les traités, certaines larves se trouvaient encore au 2e stade après 8 mois.

3. *Influence du substrat*

Elle a été mise en évidence en comparant l'évolution et la mortalité de larves placées, dès l'éclosion, à 20°C, dans une « terre franche », composée d'argile, sable et terreau dans les proportions de 7/2/1 ; et dans de la tourbe, substrat dans lequel le meilleur développement des larves a été observé (HURPIN, 1964).

Un retard dans la mue ainsi qu'une mortalité plus grande ont été enregistrés dans tous les lots élevés dans la terre par rapport à ceux maintenus dans la tourbe.

TABLEAU 3

Action du substrat sur la mortalité de L_1 à 20°C (lots de 20 larves)

Traitement	Virose		Autre mortalité	
	Tourbe	Terre	Tourbe	Terre
Témoin	—	—	5	12
Témoin + broyat larve saine	—	—	3	8
Traité 1 larve malade/2 litres substrat	19	13	1	7
Traité 1 larve malade/1 litre substrat	16	12	4	7
Traité 2 larves malades/1 litre substrat	14	9	6	11

Comme le montre le tableau 3, un plus fort pourcentage de larves malades a été obtenu avec les trois doses considérées sur tourbe (95, 80 et 70 p. 100) que sur terre (70, 60 et 45 p. 100).

Les pourcentages élevés de virose prouvent que la nature du pH n'a pas modifié la résistance du germe; puisqu'il était un peu inférieur à 7 pour la terre et de 3,3 pour la tourbe.

4. *Influence de la température*

Elle a été examinée pour les trois stades larvaires par contamination du substrat d'élevage et, en outre, pour les larves au 3e stade, par inoculation.

a) *Essais par inoculation.*

Après inoculation (dose D/1) des larves furent placées à 5 températures (25°, 20°, 17°, 13° et 5°C). Les premiers cadavres de larves malades furent notés dès la 7e semaine à 25°C, alors qu'il fallut attendre la 16e semaine à 20°C et la 26e à 17°C. Après 30 semaines, aucune des larves placées à 13° et 5°C ne présentait de symptômes. Cependant, ces mêmes larves transférées à 25°C furent toutes malades plus ou moins rapidement une fois placées dans des conditions de température permettant le développement de l'infection virale (tabl. 4).

TABLEAU 4

Nombre de larves malades à 25°C en fonction de la durée du séjour à 5°C et 13°C après infection

°C	Délai en semaines					
	12	30	36	48	56	66
13°C		6/6		4/4		3/3
5°C	5/5	6/6	4/4		2/2	

A 5°C, la non apparition des symptômes peut être attribuée à l'inactivité des larves. Cependant, le germe n'est pas inhibé, même après 56 semaines à cette température, alors que Aizawa (1963) n'a observé aucun développement de la virose pour des chrysalides de *B. mori* conservées pendant 36 jours à 5°C.

A 13°C, l'activité larvaire, bien que faible, n'est pas totalement interrompue ; les larves s'alimentent légèrement et parviennent à muer. On peut supposer que la multiplication du germe n'est pas arrêtée, mais que le délai nécessaire avant l'apparition des symptômes est supérieur à 6 mois. Des prélèvements d'hémolymphe et de tissu adipeux, effectués après 1 et 2 mois sur des larves maintenues à 13°C et inoculés à des larves saines, donnèrent des larves malades, alors que les mêmes contrôles pratiqués après 1, 2 et 4 mois 1/2 sur des larves élevées à 5°C furent négatifs.

De même, l'ingestion forcée à des vers blancs sains de broyats de larves injectées avec le virus et mortes à 5°C, après 36, 48 et 56 semaines ne provoqua aucun cas de maladie.

b) *Essais par contamination du substrat.*

Des larves de *M. melolontha*, peu de jours après la première mue (L_2) pour un lot, et après la seconde mue (L_3) pour un autre lot, ont été placées dans un substrat

contaminé (1 larve malade pour 1 litre de tourbe), à trois températures (17°, 20° et 25°C).

Les courbes de la figure 10 montrent pour les deux stades une rapidité de développement de la maladie en rapport étroit avec la température d'élevage. Les délais sont sensiblement les mêmes : 22 semaines à 25°C, 37 semaines à 20°C pour les larves

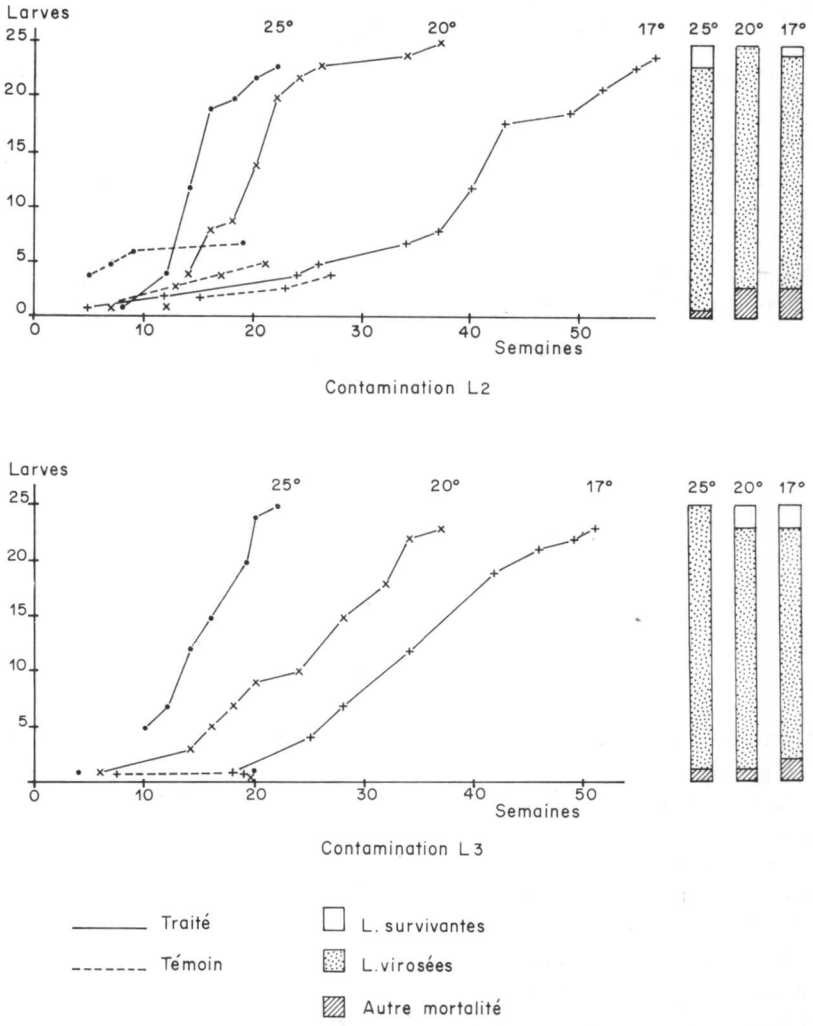


FIG. 10. — *Délais de développement de la maladie par contamination de la tourbe chez les larves des deux premiers stades, en fonction de la température*

des deux stades, et à 17°C de 51 semaines pour les L_3 et de 57 semaines pour les L_2. On constate que, pour une même dose, le pourcentage de larves malades (84 et 86 p. 100) est le même pour les deux stades aux trois températures. La température intervient donc davantage sur la vitesse de l'infection que sur son degré.

Ce fait a été confirmé par une autre expérience conduite à 20° et 25°C en opérant avec toute une gamme de doses. Des larves L_2 ont été soumises à 7 doses de

matière infectieuse (de 1 larve malade incorporée à 2 l de tourbe à 1 larve malade pour 160 l).

Après 20 semaines d'observation, on enregistre une évolution plus rapide de la virose à 25°C, mais la quantité de larves malades demeure en rapport avec la dose utilisée (fig. 11).

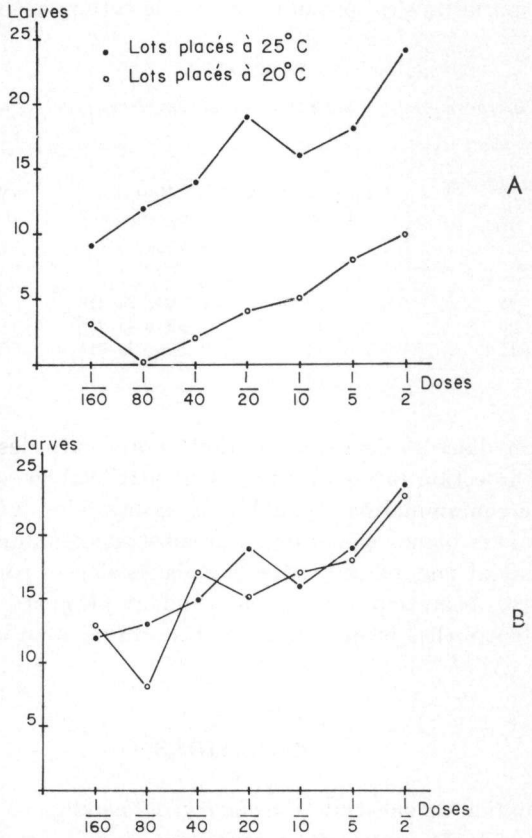


FIG. 11. — *Évolution de la virose en fonction de la température*
A = larves malades après 20 semaines
B = larves malades après 41 semaines

Après 41 semaines, le nombre de larves malades est peu modifié à 25°C, alors que pour les lots à 20°C les cas de virose sont quatre fois plus nombreux ; le nombre final de larves malades est à peu près identique pour une même dose aux deux températures, comme dans l'expérience précédente (fig. 11).

c) *Influence de la température sur la survie des larves malades.*

En dehors de son action sur l'évolution de la maladie et la multiplication du virus, la température intervient également dans les délais de survie des insectes malades, ainsi que le montrent les observations suivantes.

Après ingestion libre à 20°C par des larves des deux premiers stades élevées dans un substrat contaminé aux doses de 1/10 à 4/10, la mortalité (avec développement de la virose dans les larves) a commencé la 7e semaine après le traitement

pour se terminer vers la 43e, alors que pour les larves maintenues à 25°C, cette période a été comprise entre la 6e et la 30e semaine après le traitement. A des doses supérieures (de 4/1 à 16/1) la mortalité de L_2 et L_3 élevées à 25°C est également intervenue entre la 7e et la 30e semaine.

Pour d'autres larves inoculées avec une même dose de virus et élevées à trois températures, la mortalité s'est produite suivant le rythme résumé dans le tableau 5.

TABLEAU 5

Délais de mortalité en fonction de la température de L_3 injectées

Température d'élevage (°C)	Nombre de larves observées	Mortalité en semaines	Moyenne en semaines
25	22	7e à la 31e	18
20	18	16e à la 34e	23
17	17	26e à la 71e	49

Les différences dans les délais de mortalité notés entre les essais par ingestion libre et ceux par injection intracœlomique sont attribuables, semble-t-il, à la différence de mode de contamination. Dans les larves injectées la maladie évolue plus vite que chez les vers blancs élevés dans un substrat contaminé.

Notons cependant que, parmi 30 larves malades élevées pendant 4 mois à 25°C, puis placées à 13°C, beaucoup survécurent pendant plusieurs mois à cette température, et deux d'entre elles jusqu'à 19 mois. Une survie aussi longue a été observée à 5°C.

CONCLUSIONS

Par contamination du substrat, *Vagoiavirus melolonthae* se développe dans tous les stades larvaires de *M. melolontha* ; cependant nous avons noté une réceptivité plus grande pour les larves des deux premiers stades. L'évolution de la maladie peut se poursuivre au cours de la nymphose, surtout si la contamination a été faite en fin de vie larvaire, mais la mort de l'insecte se produit généralement avant le stade imaginal. Le développement de la virose chez l'adulte a pu être obtenu après inoculation de prénymphes ou de nymphes ; cependant la multiplication du germe dans l'hôte a toujours provoqué la mort des insectes, et empêché de vérifier si des adultes malades pouvaient transmettre la maladie à la descendance.

Nous n'avons pas observé de modifications importantes de la virulence au fur et à mesure des passages successifs de Ver blanc à Ver blanc, comme VEBER (1962) l'a mis en évidence pour une virose polyédrique de *Galleria mellonella*, ni de changement de symptômes, de rapidité d'évolution, ou de morphologie, comme dans le cas de *Rickettsiella melolonthae* (HURPIN, 1960).

La quantité d'inoculum incorporée au milieu d'élevage agit notamment sur la rapidité de développement de la maladie, ainsi que sur les possibilités de mue des

insectes infectés. A une forte dose de germes correspond une mortalité totale importante au détriment de la morbidité.

Bien que ne possédant pas encore une technique de titrage appropriée afin d'évaluer le pouvoir pathogène des préparations, l'influence de la dose a été contrôlée sur Vers blancs, par inoculation, ingestion forcée et contamination du substrat.

Après inoculation dans la cavité générale de larves au 3e stade, la présence de larves malades, à des dilutions importantes, nous permet de penser qu'une particule infectante est susceptible de provoquer la maladie. Par ce mode d'infection, on élimine le rôle que peut jouer la barrière intestinale, et d'autre part seul le pouvoir infectieux des virus libres est contrôlé.

La méthode par contamination du substrat qui se rapproche des conditions naturelles d'infection a permis de situer la dose nécessaire pour provoquer 50 p. 100 de morbidité. Chez les larves des deux premiers stades, elle est d'environ une larve malade pour 60 à 100 litres de tourbe, alors que pour les larves au 3e stade cette dose doit être environ 10 fois supérieure.

Indépendamment des facteurs liés à l'hôte ou au germe, nous avons, parmi les facteurs du milieu, examiné l'influence de la nature du substrat et de la température ambiante. Pour les deux substrats expérimentés (terre et tourbe), nous avons noté dans tous les lots (témoins et traités) un développement plus rapide des larves élevées dans la tourbe par rapport à celles maintenues dans la terre. En ce qui concerne les lots traités, pour une mortalité totale les pourcentages de morbidité ont été supérieurs pour les larves élevées dans la tourbe contaminée.

La multiplication du germe dans l'hôte a été observée à 17°, 20° et 25°C ; le délai de développement est en corrélation avec la température de l'élevage : il est d'autant plus court que la température est élevée. Le seuil thermique à partir duquel la maladie se développe paraît voisin du seuil de développement des vers blancs (11°C) ; ainsi, à 5°C, l'infection se maintient sans se développer.

La survie des larves malades est également fonction de la température ; elle est comprise entre la 6e et la 30e semaine à 25°C, mais peut persister plus d'une année à 13° ou 5°C.

Nous avons, parallèlement aux recherches faites au laboratoire, abordé l'expérimentation en prairies. Des parcelles de 16 m², infestées artificiellement par l'apport de hannetons femelles capturés en vol de ponte puis placés sous filets, ont quelques mois plus tard, après estimation du nombre de larves, fait l'objet de traitements. Périodiquement, des sondages ont été effectués afin de suivre l'évolution des populations larvaires. Les résultats préliminaires obtenus après 5 années de contrôle indiquent que l'implantation de la maladie dans un biotope est possible. Elle a été réalisée à deux reprises dans la Sarthe. D'autre part, bien qu'aucune épizootie ne se soit manifestée jusqu'à présent, nous avons au cours de cette période constaté le maintien du germe dans le foyer d'origine situé à Ségrie (Sarthe). Nous envisageons dans une publication ultérieure de faire la récapitulation de nos observations sur le terrain commencées en 1961.

Nous devons préciser que les possibilités d'application dans la nature pour la lutte biologique contre les larves de *M. melolontha* se trouvent limitées par les possibilités actuelles de production de matière active.

Reçu pour publication en mars 1969.

REMERCIEMENTS

J'exprime toute ma gratitude à M. B. HURPIN pour ses précieux conseils et l'attention bienveillante qu'il a réservée à ce travail, ainsi qu'à M. P. GRISON, Directeur de la Station de La Minière, qui m'a accordé toutes les facilités de travail.

SUMMARY

A LABORATORY STUDY OF THE EFFECT OF THE LARVAL STAGE, THE QUANTITY OF VIRUS AND THE TEMPERATURE ON THE INFECTION OF *MELOLONTHA MELOLONTHA* (*COLEOPTERA SCARABAEIDAE*) WITH *VAGOIAVIRUS*

Multiplication of *Vagoiavirus melolonthae* has been observed at all stages of the evolution cycle of *Melolontha melolontha*, but the greatest sensitivity has been demonstrated during the first two larval stages.

Growth of the virus in the white grub does not prevent either moult or metamorphosis, but the chances of a successful passage from one generation to another by the adults appear doubtful as a result of the sensitivity of the imago to infection.

Various observations, both on the effect of the number of passages on the virulence and also on the amount of virus used, have confirmed the importance of the larvae, chosen for preparation of the ground material, being rich in virus.

The pathogenicity for grubs is considerable, when administered by intrahæmocœlian inoculation. As a result of contamination of the substrate the VD_{50} was assimilated for larvae of the first two stages in the case of an amount equivalent to one L_3 homogenized diseased larva per 60-100 l turf. A ten times greater amount was required in order to produce in the L_3 the appearance of the disease under the same conditions.

The superiotity of turf over earth has at the same time been confirmed both by the growth of the grubs and by the spread of the disease.

The most rapid multiplication of the virus in the host occurs at 25°C ; it is slowed down at temperatures of 20° and 17°C and maintained in a latent stage at 13°C. The possibility of using this infection in the fields against grubs has been based on its maintenance in the natural environment and the possibility of implanting the virus infection in grub populations, but the conditions of artificial multiplication have at the present time restricted experimentation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AIZAWA K., 1963. The nature of infections caused by nuclear-polyhedrosis viruses. In STEINHAUS E.A *Insect Pathology, and advanced treatise*, **1**, 382-412.

AMARGIER A., VAGO C., MEYNADIER G., 1964. Étude histopathologique de l'évolution de la virose à fuseaux chez le Coléoptère *Melolontha melolontha*. *Mikroskopie*, **19**, (11-12), 309-315.

DUFRÉNOY J., 1967. Présentation d'ouvrage : P. H. ROBERT, Observations écologiques sur une virose cytoplasmique des larves du Hanneton commun, *Melolontha melolontha* L. (Col. *Scarabaeidae*). *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **53**, 1302-1303.

FERRON P., 1966. *Observations écologiques sur la mycose* à Beauveria tenella (DELACR.) SIEMASZKO *des larves du Hanneton commun*, Melolontha melolontha *L.* Thèse IIIe Cycle, Fac. Sci., Paris.

HURPIN B., 1959. Étude de diverses souches de maladies laiteuses sur les larves de *Melolontha melolontha* L. et sur celles de quelques espèces voisines. *Entomophaga*, **4** (3), 233-248.

HURPIN B., 1960. Observations pathologiques sur les maladies à Rickettsies des larves de *Scarabaeidae*. *Verhandl. XI. Intern. Kongr. Entomologie*, Wien, **3**, 875-880.

HURPIN B., 1962. Super-famille des Scarabaeoidea, in *Traité d'Entomologie appliquée à l'agriculture*, T. I édit. A.S. Balachowsky, 24-204.

HURPIN B., 1964. Élevage des vers blancs ou larves de *Melolontha melolontha* L. (Col. *Scarabaeidae*). *Rev. Pathol. vég. Entomol. agric. Fr.* **43**, (3), 153-177.

HURPIN B., 1964. Influence de certains facteurs du milieu sur la virulence de *Rickettsiella melolonthae* KRIEG *Proceed. XII Int. Congr. Entomol.* London, 727.

HURPIN B., 1965. Sur la résistance de *Rickettsiella melolonthae* KRIEG aux antibiotiques. *Entomophaga*, **10** (4), 311-315.

HURPIN B., 1967. Recherches épizootiologiques sur la maladie laiteuse à *Bacillus popilliae* « *Melolontha* ». *Ann. Épiphyties*, **18**, 127-173.

HURPIN B., ROBERT P., 1967. Sur la spécificité de *Vagoiavirus melolonthae*. *Entomophaga*, **12** (2), 175-180.

HURPIN B., VAGO C., 1963. Une maladie à inclusions cytoplasmiques fusiformes chez le Coléoptère *Melolontha melolontha* L. *Rev. Pathol. vég. Entomol. agric. Fr.*, **42** (2), 115-117.

KHARAZI-PAKDEL A., 1967. *Recherches écologiques et cytopathologiques sur une protozoonose de Coléoptères Scarabéides due à Nosema melolonthae* KRIEG. Thèse III[e] Cycle, Fac. Sci., Paris.

MEYNADIER G., FOSSET J., VAGO C., DUTHOIT J.-L., BRÈS N., 1968. Une virose à inclusions ovoïdes chez un Lépidoptère. *Ann. Épiphyties*, **19** (4), 703-706.

ROBERT P., 1969. Essais de laboratoire sur la conservation de la virulence de *Vagoiavirus melolonthae*. *Entomophaga*, **14**, 159-175.

VAGO C., 1956. *L'enchaînement des maladies chez les insectes. Recherches expérimentales en pathologie comparée*. Thèse Doct. Sci. nat. Aix-Marseille, 184 p.

VAGO C., 1963. A new type of insect virus. *J. Insect Pathol.*, **5** (2), 275-276.

VAGO C., CROISSANT O., 1964. Étude morphologique du virus de la maladie à fuseaux des Coléoptères. *Entomophaga*, **9** (2), 207-210.

VAGO C., AMARGIER A., HURPIN B., MEYNADIER G., DUTHOIT J.-L., 1968. Virose à fuseaux d'un Scarabéide d'Amérique du Sud. *Entomophaga*, **13** (4), G. 373-376.

VAGO C., MONSARRAT P., DUTHOIT J.-L., AMARGIER A., MEYNADIER G., WAEREBEKE D. U., 1968. Nouvelle virose à fuseaux observée chez un Lucanide (Coléoptère) de Madagascar. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **266**, 1621-1623.

VEBER J., 1962. Virulence of an insect virus increased by repeated passages. *Entomophaga*, mémoire hors-série n° 2, 403-405.

VIDENOVA E., SENGALEVICH G., 1966. Virus disease with caterpillars of the species *Cossus cossus* L. (*Lepidoptera, Cossidae*). *Grad. Lozar. Nauka*, **3**, 31-40.

WEISER J., 1965. *Vagoiavirus* gen. n., a virus causing disease in insects. *J. Invert. Pathol.*, **2** (1), 82-85.

WEISER J., VAGO C., 1966. A newly described virus of the winter moth *Operophtera brumata* HÜBNER (*Lepidoptera-Geometridae*). *J. Invert. Pathol.*, **8**, 314-319.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 309-320.

LE DÉVELOPPEMENT DU VIRUS DE LA DENSONUCLÉOSE AU COURS DE LA MÉTAMORPHOSE DE SON HÔTE, *GALLERIA MELLONELLA* L. (*LEPIDOPTERA*)

N. BOEMARE et Nicole BRÈS

Station de Recherches cytopathologiques, 30 - Saint-Christol-les-Alès
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Au moyen des techniques histologiques (Feulgen, Azan, A.P.S.), une action virale sur la métamorphose de *Galleria mellonella* (L.) a été mise en évidence. Une infection forte arrête le développement de la larve au stade prénymphal. Cette prénymphe permanente présente des altérations nucléaires caractéristiques de la densonucléose dans tous les tissus, à l'exception du tissu nerveux et de l'épithélium de l'intestin moyen. A des concentrations plus faibles, la métamorphose débute et des noyaux denses s'élaborent d'abord dans les tissus larvaires encore présents dans la nymphe, puis dans les structures imaginales en développement ou achevées. Une atteinte au niveau des cellules germinales a été observée.

INTRODUCTION

Un nouveau type de maladie virale décrite à partir du Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.) (MEYNADIER *et al.*, 1964 ; VAGO, MEYNADIER, DUTHOIT, 1964), est caractérisé par une hypertrophie extrêmement prononcée des noyaux des cellules et par le remplacement progressif de la structure interne de ceux-ci par une masse dense Feulgen positive. Le virus isolé est de symétrie cubique et mesure 20 à 23 mμ. Les masses nucléaires denses sont à l'origine de l'appellation de la maladie : la Densonucléose.

L'inocuité du virus sur les mammifères a été démontrée par des essais sur la Souris et le Lapin (GIRAN, 1966). L'obtention d'un antisérum a permis de réaliser des études sérologiques telles que les tests de diffusion en gel (GIRAN, 1966). Jusqu'à ce jour, le virus n'a pu être transmis sur aucune autre espèce d'insecte, voire même de Lépidoptère voisin.

C'est au cours de l'étude de cette maladie qu'on est parvenu pour la première fois à réaliser la contamination d'une culture de tissus à partir de l'hémolymphe infectieuse d'un insecte atteint de virus d'invertébrés sans corps d'inclusion (VAGO, LUCIANI, 1965) et à partir du virus purifié (VAGO, QUIOT, LUCIANI, 1966). Ces deux dernières recherches montrèrent en même temps la perte en culture de la haute spécificité du virus (mentionnée plus haut) puisque des lésions caractéristiques furent observées dans des cultures de fibroblastes de gaines ovariques de *Bombyx mori* L.

L'étude au microscope électronique montre la présence d'une grande quantité de particules virales dans les masses nucléaires denses Feulgen positives (VAGO, DUTHOIT, DELAHAYE, 1966).

L'acide nucléique du virus a été extrait et sa nature A.D.N. bicaténaire a été déterminée (TRUFFAUT *et al.*, 1967).

Les études histopathologiques de la maladie ont révélé qu'au stade larvaire l'action virale se manifeste d'abord dans l'hypoderme et le tissu adipeux (AMARGIER, VAGO, MEYNADIER, 1965). Les cellules sanguines, les cellules péritrachéales, les tubes de Malpighi et le tissu musculaire, sont également atteints au niveau du noyau. Ces auteurs ont aussi montré, dans la paroi des glandes séricigènes, des formes monstrueuses Feulgen positives de noyaux, qui se substituent à la structure normalement digitée des noyaux de ces organes.

L'action de la maladie sur la sécrétion de la soie a été reconnue dans le sens d'un mauvais fonctionnement des glandes séricigènes par l'hypertrophie nucléaire des cellules qui les constituent. Ce trouble diminue l'évacuation de l'azote catabolique de l'hémolymphe et contribue pour une part à l'intoxication de l'animal (AMARGIER, 1966).

Si la nature polytrope du virus s'étend aussi à l'épithélium des portions antérieure et postérieure du tube digestif, l'intestin moyen, par contre, semble exempt de lésions caractéristiques (BERGOIN, BRÈS, 1968 ; KURSTAK *et al.*, 1968).

Les études histologiques réalisées jusqu'à ce jour, ont été effectuées exclusivement au stade larvaire de l'hôte. Nous avons envisagé de les étendre au stade nymphal du Lépidoptère *G. mellonella*. Une telle étude présente l'intérêt particulier de se situer au moment des bouleversements tissulaires de la métamorphose. Notre but étant une analyse pathologique, nous ne pouvons pas détailler les aspects histologiques consécutifs aux remaniements de cette période. Cependant nous devons en tenir compte en essayant de faire la part de la dégénérescence propre à la physiologie de la métamorphose et de celle due à l'évolution de la maladie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. *Purification du virus*

C'est à partir de tissu adipeux de larves fortement atteintes, broyé dans un tampon ascorbate-*tris* (acide ascorbique à 2 p. 100 amené à pH 7,5 par addition de *tris* 1M) et centrifugé à 9 000 *g* pendant 20 mn que nous avons préparé la suspension virale. Le surnageant est filtré sur laine de verre et membranes millipores (8 ; 5 ; 1,2 ; 0,45 mμ). Le filtrat est centrifugé à 200 000 *g* pendant une heure. Le culot est redispersé dans un tampon phosphate 0,01 M à pH 7,0. Trois cycles de centrifugation à 200 000 *g* sont effectués. La pureté de la suspension obtenue est contrôlée au microscope électronique après coloration négative à l'acide phosphotungstique.

2. *Préparation des oligodoses pour les infections expérimentales*

La suspension virale et diverses dilutions sont testées par inoculation de différents lots de larves en début de 5e stade. C'est la suspension dont la concentration occasionne 100 p. 100 de mortalité aux stades larvaires, 8 jours après l'inoculation, qui est retenue comme suspension mère dans nos inoculations effectuées à la fin de la vie larvaire.

La densité optique de cette solution est de 0,81 au spectrographe Beckman en UV pour la longueur d'onde de 260 mμ. On prépare des suspensions diluées de cette solution de base au 1/10, 1/100, et 1/1 000.

La contamination par voie buccale est réalisée à partir de nourriture infectieuse. On prépare un mélange en parties égales de pollen et de la suspension mère.

3. *Inoculation des larves prêtes à la nymphose*

A la fin de la vie larvaire un papier-filtre est déposé dans le tiers supérieur du bocal d'élevage. Plus tard ce substrat renferme une centaine de chenilles par bocal qui sont, soit en début de filage, soit en période de vagabondage, signes prémonitoires de la nymphose. Elles sont inoculées immédiatement avec les suspensions virales définies plus haut (solution mère de densité optique 0,81 à 260 mμ pour le lot 1, solution 10^{-1} pour le lot 2, solution 10^{-2} pour le lot 3, solution 10^{-3} pour le lot 4) afin de constituer 4 lots de chenilles infectées. 72 heures après l'inoculation les chenilles qui n'ont pas terminé leur filage sont éliminées et elles représentent en moyenne 10 p. 100 de déchet. On réalise ainsi des groupes homogènes d'individus d'âge identique, inoculés à la même période physiologique (le filage précédant le repos prénymphal) dans lesquels la nymphose doit se produire simultanément. Il en est ainsi pour le lot témoin (lot 5) où, 72 heures après le choix des larves prêtes à la nymphose et l'inoculation de sérum physiologique stérile, les nymphes apparaissent.

4. *Infection* per os *des chenilles de fin de croissance*

On choisit des chenilles qui, sans quitter la zone d'alimentation, ont, cependant, au sein de cette dernière, une activité fébrile signe d'une « montée » prochaine. Elles sont alimentées sur pollen infectieux pendant 24 heures, puis déplacées dans un bocal contenant pollen, cire, et papier-filtre stériles. Cinq jours après ce choix et la présentation de la nourriture contaminée, on effectue une discrimination, comme dans la méthode précédente, entre les prénymphes à maturité et les retardataires éventuelles qui sont éliminées. On obtient ainsi des nymphes très jeunes (3 à 5 heures après l'exuviation) reconnaissables à leur coloris jaune ou orangé clair, ou des prénymphes prêtes à la mue nymphale, infectées par voie buccale 5 jours auparavant (lot 6).

Ces larves et nymphes sont élevées à 28°C et à 40 p. 100 d'humidité relative.

5. *Méthodes histologiques*

Après fixation aux liquides de Helly ou Carnoy et après déshydratation, les pièces sont incluses dans la paraffine 54-56°C. La fixation et l'inclusion sont en partie menées sous vide.

Les coupes sont colorées selon la méthode Feulgen-Rossenbeck et, quand c'est nécessaire, avec son contrôle à l'acide trichloracétique. Nous avons employé l'acridine-orange pour l'examen en fluorescence. Dans quelques cas il a été nécessaire d'utiliser la coloration A.P.S. et son contrôle à l'amylase salivaire ainsi que la coloration Azan.

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION VIRALE SUR LA MÉTAMORPHOSE

Les observations effectuées sur des larves infectées peu avant la nymphose et réparties en six lots décrits précédemment sont portées dans le tableau 1.

On remarque à la lecture de ce dernier que dans les lots inoculés avec des fortes doses (1 et 2), aucune nymphe n'apparaît si l'on néglige les 10 p. 100 du lot 2. Par contre, dans les lots inoculés aux faibles doses (3 et 4), c'est une apparition globale des nymphes que l'on observe.

L'influence sur la mue est particulièrement nette dans les deux premiers lots. Il existe un arrêt de la mue sans que pour autant, au moment où cette mue devrait se produire, un signe histologique de la virose n'apparaisse. Les prénymphes ont cependant terminé leur filage et par la suite demeurent dans leur cocon. Leur développement est arrêté à la prénymphose. Elles meurent au bout de 8 à 10 jours. Cet arrêt dans l'évolution post-embryonnaire est total dans le lot inoculé avec la suspension mère (lot 1), tandis qu'il est plus nuancé dans le lot inoculé avec la dilution au 1/10 (lot 2 : 10 p. 100 d'apparition de nymphes). On est alors à proximité du seuil de tolérance si l'injection n'est pas rigoureusement égale.

TABLEAU I

Survie après l'infection

			Survie		
	Dose	N	Spn (%)	Sn (%)	Si (%)
Lot 1	S. mère	46	100	0	0
Lot 2	S. 10^{-1}	47	100	10	0
Lot 3	S. 10^{-2}	42	100	100	0
Lot 4	S. 10^{-3}	48	100	100	14
Lot 5	S. sté.	45	100	100	100
Lot 6	*per os*	45	100	66	10

Lot 1 = Inoculation avec la solution mère du virus de la Densonucléose (densité optique : 0,81 à 260 mμ).
Lot 2 = Inoculation avec la dilution au 1/10 de la solution mère.
Lot 3 = Inoculation avec la dilution au 1/100 de la solution mère.
Lot 4 = Inoculation avec la dilution au 1/1000 de la solution mère.
Lot 5 = Inoculation avec le sérum physiologique stérile.
Lot 6 = Infection par voie buccale avec du pollen contaminé.
N = Nombre de prénymphes infectées après la discrimination.
Spn, Sn, Si = Survies prénymphale, nymphale et imaginale.

En outre on voit que les concentrations doivent être plus faibles pour obtenir la même mortalité qu'au stade larvaire puisque la dilution au 1/10 de la suspension mère qui occasionnait 100 p. 100 de mortalité larvaire, provoque elle aussi la même mortalité au bout de huit jours aux stades prénymphal et nymphal.

En ce qui concerne le lot inoculé avec la dilution au 1/100 (lot 3) on constate que, bien que les nymphes apparaissent, c'est avec un certain retard par rapport aux témoins (lot 5). Il y a encore une influence virale sur la mue. Cependant, le seuil de tolérance permettant la nymphose peut être considéré comme franchi. Le retard n'excède pas 3 jours.

Pour le lot inoculé avec la dilution au 1/1 000 (lot 4) la mue nymphale a lieu sans retard par rapport au témoin.

La détermination et le choix des larves ayant été réalisés dans les mêmes conditions pour les lots infectés comme pour le témoin les retards observés ou l'absence de nymphose ne sont imputables qu'à une action virale.

Quant au lot infecté par voie buccale (lot 6) toutes les possibilités précédentes se produisent, elles s'expliquent par la variation quantitative dans l'assimilation du pollen infectieux par les larves.

Enfin la pathogenèse au stade nymphal est plus longue qu'au stade larvaire s'étalant de 8 jours (surtout les lots 1 et 2) à 14 jours (lots 3 et 4).

Pour l'étude histopathologique des prélèvements ont été effectués dans tous les lots décrits. Des examens systématiques de frottis nous ont permis d'avoir la certitude que tous les cas de mortalité étaient bien dus à la Densonucléose.

CHANGEMENTS HISTOLOGIQUES AU COURS DE LA MÉTAMORPHOSE

Afin de distinguer et d'interpréter les lésions pathologiques nous avons dû examiner certains aspects particuliers des changements histologiques et cytologiques observables au cours de la métamorphose de *G. mellonella*.

1. *Modifications histologiques*

Dès le début de la nymphose une lyse nucléaire est visible dans les glandes séricigènes en voie d'involution. Les noyaux tout en conservant leur structure digitée sont vivement colorés en une tache uniforme Feulgen positive faisant penser à un processus de caryolyse.

Au cours du stade nymphal, les tissus larvaires dégénèrent et le dernier à disparaître sera le tissu adipeux. Il est progressivement lysé au profit de l'installation de nouveaux organes tels que les muscles de l'imago par exemple.

Ainsi, des îlots de tissu musculaire imaginal constitués par la réunion d'histoblastes, en des poches arrondies, se forment au sein du corps adipeux. Chez l'insecte proche de l'émergence imaginale il se présente sous forme d'un damier de petites sections musculaires, d'allure géométrique, juxtaposées les unes aux autres, avec des noyaux périphériques de taille réduite qui sont les fibres des muscles (fig. 5).

Le tube digestif subit un remaniement important dès la prénymphose jusqu'au milieu du stade nymphal. A partir de cellules régénératrices, il s'organise une nouvelle couche cellulaire qui double l'épithélium ancien. Ce dernier se délamine pour tomber dans la lumière du nouvel intestin ainsi constitué. Dans l'épithélium larvaire les noyaux se pycnosent. Dans la couche néoformée certains noyaux subissent une dégénérescence par excès de divisions. L'intense activité mitotique explique la présence des nombreux noyaux (fig. 3).

Un raccourcissement de la chaîne nerveuse chez *G. mellonella* par une réduction du nombre des ganglions et des connectifs interganglionnaires élabore le système nerveux de l'adulte (Pipa, 1963). L'histolyse de la gaine périganglionnaire constitue

la première phase du remaniement (ASHHURST et RICHARDS, 1964 *a* et *b*). Puis, un développement de tissu connectif, plus important sur le côté dorsal de la chaîne nerveuse, formé par les cellules de la gaine proprement dites, constitue le nouvel emballage du tissu nerveux. Le tissu nerveux est entouré alors par un conjonctif qui comprend une lamelle neurale externe et acellulaire et des cellules sous-jacentes (cellules de la gaine) constituant ainsi le périneurium ou gaine périneurale.

Nous rappelons le rôle important des disques imaginaux. Dans l'hypoderme, en particulier, la multiplication des cellules de ces îlots provoque l'évagination sous la cuticule nymphale dans l'espace exuvial des ébauches des ailes et des pattes thoraciques.

Ainsi la métamorphose de *G. mellonella* se traduit en histologie par les trois processus reconnus chez divers insectes. L'histogénèse telle que l'épanouissement des disques imaginaux ou l'organisation des muscles imaginaux. L'histolyse qui procède par autolyse et phagocytose des résidus par les cellules sanguines (tissu musculaire larvaire par exemple). Le remaniement qui comprend l'histolyse des structures anciennes et une histogénèse consécutive (l'intestin moyen et la chaîne nerveuse par exemple).

D'une façon générale la gamétogénèse préparée depuis les stades larvaires n'entre en méiose qu'au stade nymphal.

Dans la prénymphe les ovarioles sont libérées dans la cavité viscérale et s'accroissent. L'ovogénèse se déroule dans la nymphe et les ovules seront prêts à être fécondés dès l'émergence imaginale.

La spermatogénèse se réalise au cours du stade nymphal. Des paquets de spermatozoïdes s'observent en grand nombre (fig. 10).

2. *Modifications cytologiques*

Une exubérance de mitoses, lors de chaque élaboration de nouvel organe, va se produire. Un surcroit de cellules peut exister qui dégénère dans les plages imaginales en édification. D'après WIGGLESWORTH (1954), même parmi les cellules en activité mitotique on peut voir de nombreuses gouttelettes de chromatine provenant de « l'excès nucléaire ». Cet auteur appelle ce phénomène la « chromatolyse » qui « est particulièrement visible au cours de la métamorphose » dans les cellules qui sont produites en surnombre. Afin d'éviter une confusion d'interprétation nous insistons sur cet aspect puisque le site de multiplication du virus de la Densonucléose est dans le noyau. La chromatolyse cependant se produit surtout dans les anciennes structures larvaires. Il semble qu'il s'agisse du produit tout entier des noyaux qui sont désintégrés (WIGGLESWORTH, 1954).

Cependant on rencontre au cours de la métamorphose les processus connus de dégénérescence nucléaire : la caryorhexie ou la caryolyse.

La caryorhexie présente, après la dilatation du noyau, des amas de chromatine (caryosomes), plus ou moins nombreux, vacuolaires, qui s'individualisent et sont ensuite libérés dans le cytoplasme. Ce phénomène correspond bien à ce qui a été décrit par WIGGLESWORTH (1954).

La caryolyse, qui se traduit par une dissolution de la chromatine au sein du noyau hypertrophié, correspond à une teinte rosée uniforme à la coloration Feulgen. On l'observe au cours de la métamorphose (glandes séricigènes par exemple).

CHANGEMENTS HISTOPATHOLOGIQUES DUS A L'ACTION VIRALE

Les larves infectées, peu avant la nymphose, selon les modalités précisées plus haut ont été soumises à l'étude histologique dès le deuxième jour suivant l'inoculation ou l'infection par voie buccale.

1. *Évolution histologique des lésions*

1. *Lésions dans les larves.*

Quelle que soit la suspension virale utilisée (solution mère, solution 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}), aucune lésion n'est observable histologiquement 3 jours après l'inoculation, c'est-à-dire pendant le temps nécessaire dans notre expérience à l'apparition des nymphes.

De même, 5 jours après la contamination des larves, aucun individu ne présente d'altération due à la Densonucléose dans le lot infecté *per os* (lot 6), période correspondant au temps nécessaire à la formation des nymphes.

2. *Lésions dans les prénymphes « permanentes ».*

Le fait le plus important est l'arrêt en prénymphe, dans les lots inoculés aux fortes concentrations (lots 1 et 2). Après la période où aurait dû se produire la mue nymphale (3 jours après l'inoculation), durant laquelle on n'observe rien histologiquement, des noyaux denses apparaissent dans le tissu adipeux et l'hypoderme. La cuticule larvaire persiste et la formation de la cuticule nymphale est inachevée ou inexistante. La déhiscence exuviale ne s'amorce pas.

Puis le tissu musculaire présente des noyaux denses et une lyse du sarcoplasme débute. Même sept jours après l'inoculation on ne voit pas la formation du tissu musculaire imaginal.

Ainsi l'élaboration des organes imaginaux ne débute pas. Cependant l'intestin moyen est le seul organe à subir la transformation décrite précédemment. L'épithélium adulte circonscrit progressivement l'assise larvaire. Nous rappelons que c'est un tissu qui est exempt de lésions caractéristiques au stade larvaire (Bergoin, Brès, 1968 ; Kurstak *et al.*, 1968) et qu'il est indemne ici aussi. Le virus ne présente aucun tropisme vis-à-vis de cet organe ce qui permet le déroulement de la transformation.

Sept jours après l'inoculation, la maladie est présente dans tous les tissus. L'hypoderme, le tissu adipeux, les gaines de divers organes (ovaires, testicules, chaîne nerveuse), les cellules péritrachéales, les tubes de Malpighi, et les portions antérieure et postérieure du tube digestif présentent des noyaux denses. La libération des ovarioles dans la cavité générale a pu se réaliser. La différenciation des cellules germinales débute jusqu'à ce que des noyaux denses s'y inscrivent. L'ovogénèse est arrêtée au profit de la synthèse virale.

3. *Lésions dans les nymphes.*

Dans les lots ayant été inoculés respectivement avec la solution au 1/100, au 1/1 000 (lots 3 et 4) ou contaminé *per os* (lot 6) des nymphes apparaissent et présentent quatre jours après l'inoculation, ou six jours après la contamination *per os*, les premières lésions exclusivement au niveau hypodermique. Un à six noyaux parmi toutes les cellules hypodermiques d'une coupe, montrent, à la coloration Feulgen comme à l'acridine orange (examinée en fluorescence), une masse dense caractéristique de la maladie, alors que tous les autres noyaux ont leur structure chromatinienne normale.

Cinq jours après l'inoculation (nymphes de deux jours), les lésions s'étendent dans l'hypoderme sans toutefois encore se rencontrer dans tous les noyaux de ce tissu. Les autres tissus ne sont pas encore atteints.

Entre six à sept jours après l'inoculation, les noyaux de l'hypoderme sont de plus en plus hypertrophiés, tandis que quelques noyaux denses sont repérables dans le tissu adipeux (fig. 2).

Entre huit à dix jours, la maladie se généralise (nymphes de cinq à sept jours) et il n'est plus possible d'établir un ordre chronologique d'apparition des lésions dans certains tissus plutôt que dans d'autres. Le tissu adipeux qui se vacuolise au cours de cette période physiologique a tous ses noyaux lésés (fig. 6, 7, 9, 10, 11, 12) ; les tubes de Malpighi (fig. 3 et 4), les cellules sanguines, les cellules péritrachéales (fig. 7) présentent des noyaux avec les plages caractéristiques de la maladie. Malgré la dégénérescence (cf. chapitre précédent) au niveau des résidus des glandes séricigènes en involution on peut distinguer une atteinte virale caractéristique (toute structure digitée ayant disparue).

A aucun moment nous n'avons pu observer dans la portion moyenne du tube digestif une action virale. Ce résultat corrobore les observations faites au stade larvaire (Bergoin, Brès, 1968) (fig. 3) et en prénymphose. Notamment dans la couche néoformée si certains petits amas de chromatine sont observables ils sont dus à une chromatolyse caractéristique de cette période (fig. 3). Au niveau de l'épithélium larvaire délaminé dans la lumière du nouveau tube (cf. chap. II) la pycnose généralisée de tous les noyaux de ce niveau ne peut être confondue avec la dégénérescence d'origine virale. Il semble donc que pour cette région le virus ne présente aucun tropisme.

Entre les agrégats résiduels de tissu adipeux nettement atteint on peut cependant observer l'installation progressive du tissu musculaire imaginal. Si, au début, les noyaux semblent peu ou pas atteints (fig. 6), par contre, en fin d'évolution pathologique une dégénérescence particulière est observable (fig. 7). Avant de prendre la structure classique du noyau dense (cf. paragraphe suivant), une petite masse dense Feulgen positive s'observe le plus souvent contre la membrane nucléaire du noyau hypertrophié qui est nettement vacuolaire. Ceci correspondrait si ce n'était de nature virale à un processus de caryorhexie. On peut voir cependant des noyaux denses en fin d'évolution (fig. 7). De plus une lyse générale du sarcoplasme des fibres musculaires s'installe, l'agencement géométrique et l'accolement des fibres musculaires se désagrègent et l'îlot musculaire imaginal tout entier dégénère.

Chez les individus fortement atteints par la virose, les colorations employées pour mettre en évidence le tissu conjonctif entourant le tissu nerveux (cf. chap. pré-

cédent) comparées avec les coupes des mêmes nymphes colorées par le Feulgen, permettent de préciser, en se référant au témoin, qu'histologiquement le tissu nerveux proprement dit ne semble pas avoir subi l'action virale. Mais la gaine périganglionnaire à un stade très avancé de la maladie montre quelques noyaux denses dans les cellules qui la composent (fig. 9).

Bien que la maladie soit présente, la multiplication et la croissance des ébauches des appendices thoraciques à partir des disques imaginaux parviennent à se réaliser. Alors que dans les structures larvaires anciennes, telles que le tissu adipeux, l'installation du virus est rapide, ces nouvelles assises de cellules résistent plus longtemps. Ensuite on peut y observer toutes les étapes intermédiaires de la densification du noyau parce que l'implantation virale semble être plus lente (fig. 1). L'évagination de l'ébauche de l'appendice thoracique terminée et son isolement sous la cuticule nymphale achevé permettent de voir alors une généralisation des noyaux denses comme dans l'hypoderme banal (fig. 2).

Dans les gonades mâles au niveau des cellules des enveloppes conjonctives la densification des noyaux progresse rapidement (fig. 10). Si toutefois on observe quelques spermatogonies aux noyaux vivement colorables au Feulgen, il s'agit d'une pycnose ou d'une caryolyse (selon les cas), caractéristiques de la dégénérescence de quelques cellules sexuelles de ce niveau. D'autres noyaux présentent à la coloration Feulgen les phases correspondant à la méiose (division réductionnelle). Même chez les mâles très malades nous n'avons pu voir de cellules sexuelles atteintes. Les spermatozoïdes, quand ils existent, sont en paquets épais et paraissent indemnes.

Au niveau des ovaires, après libération des quatre ovarioles dans la cavité générale de la femelle, on peut voir une hypertrophie des noyaux des cellules des gaines conjonctives (fig. 11), lorsque l'insecte présente par ailleurs dans tous les tissus une pathogénèse avancée. Dans quelques cas favorables des noyaux denses caractéristiques sont observables dans les cellules sexuelles de la gonade femelle (fig. 12). Ceux-ci sont visibles chez les individus au stade ultime de la maladie ce qui peut faire penser que, parallèlement, le même résultat peut se rencontrer chez les mâles. Encore faut-il préciser, ici, des trois lignées (cellules folliculeuses, cellules trophocytaires ou ovocytes), laquelle est atteinte. Un travail est en cours pour étudier la gamétogénèse en présence de l'action virale.

2. *Évolution cytologique des lésions.*

Les lésions cellulaires que nous venons de signaler dans les différents tissus concernent avant tout les noyaux, puis dans une certaine mesure le cytoplasme.

Dans une première étape après l'infection, le noyau augmente de taille parallèlement à une granulation plus grossière constituée de petites plages Feulgen positives sur les bords de la membrane nucléaire et au sein du nucléoplasme. Le volume nucléaire poursuit son augmentation et une masse Feulgen positive s'isole au centre à partir des granulations grossières. Le reste du nucléoplasme est légèrement moins coloré par la réaction et la membrane nucléaire est représentée par une sorte d'anneau assez épais intensément coloré (fig. 1, fig. 8). Dans une étape ultérieure le noyau s'est encore hypertrophié et se trouve colorable dans toute son étendue. On est en présence d'un matériel à ADN énorme et distendu, où toute structure nucléaire a disparu. Ceci s'observe en particulier dans le tissu adipeux (fig. 6, 9, 11 et 12). Une

étape suivante est représentée par une distinction entre deux territoires. Une masse dense centrale où la substance à ADN semble s'être ramassée en une poche ovoïde vivement colorable tandis que la zone périphérique est colorée moins fortement. Dans des cas ultimes de la maladie on observe la présence d'ADN dans le cytoplasme des cellules hypodermiques en particulier. Un contrôle à l'acide trichloracétique et la répétition de la réaction sur de nombreuses coupes de différents individus en fin de pathogénèse révèle la présence d'ADN en nappe sur l'emplacement des cellules hypodermiques comme si le noyau distendu avait éclaté et libéré de l'ADN. Comme nous savons que le virus est à ADN et que la microscopie électronique à montré que les plages nucléaires Feulgen positives correspondaient à des particules virales en grand nombre, on peut émettre comme hypothèse qu'en fin d'évolution le virus est libéré dans le cytoplasme des cellules.

C'est la lenteur relative de la multiplication virale dans les cellules des ébauches des organes de l'adulte, qui a permis d'analyser les étapes intermédiaires de la formation des noyaux denses.

DISCUSSION

Cette étude montre que l'action pathologique prend des formes différentes selon l'intensité de l'infection virale.

Si celle-ci est supérieure à un certain seuil, la nymphose ne se produit pas et le développement de l'individu s'arrête à la prénymphose. Aucune structure imaginale n'apparaît dans ce cas si ce n'est l'épithélium imaginal circonscrivant l'épithélium larvaire de l'intestin moyen. La déviation du métabolisme au profit du virus prédomine dans les tissus sensibles tandis que l'intestin moyen demeure réceptif à l'action hormonale de la métamorphose.

Si la concentration de virus est faible, la nymphose se produit et pendant un certain temps une tolérance existe vis-à-vis de l'élaboration des organes imaginaux. Puis ils ne subissent plus l'effet endocrine, le virus commençant à s'y multiplier, alors que les anciennes structures larvaires présentent des noyaux denses en fin de formation.

Le virus semble ne présenter aucun tropisme pour le tissu nerveux alors que ce dernier est en période de remaniement. Par contre, la gaine périneurale montre des noyaux denses en fin d'évolution de la maladie.

Les gonades étant les dernières structures réceptives du virus, la gamétogénèse se poursuit jusque vers la fin de la pathogénèse. Les cellules germinales des ovarioles sont alors atteintes.

Le développement de la maladie au stade nymphal ne paraît donc pas uniforme comme on l'observe aux stades larvaires. Ce sont d'abord les structures larvaires encore présentes dans la nymphe qui sont les premières réceptives, puis un développement plus lent s'affirme dans les organes en formation.

Reçu pour publication en mai 1969.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF DENSONUCLEOSIS VIRUS DURING THE METAMORPHOSIS OF ITS HOST, *GALLERIA MELLONELLA* L. (*LEPIDOPTERA*)

A histological study on *Galleria mellonella* larvae contaminated *per os* or inoculated with densonucleosis virus at different degrees of concentration allowed to characterize lesions occured in the course of the pupal stage.

The development of larvae inoculated at high concentrations is stopped in the pre-pupal stage. Dense nuclei are shown in the whole of tissues except for nervous one and for mid-gut of which histogenesis is continuing.

Pupae develop among larvae inoculated at the lower concentrations but larval tissues still present in pupae are affected, then, the infection is progressively spread to the developing imaginal organs. The epithelium of mid-gut and the nervous tissue are not injuried, only the perineural sheath is affected.

Gametogenesis is continuing till an advanced stage of the disease but dense nuclei are observed in the germinal cells of ovariols at the end of the pathogenesis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AMARGIER A., 1966. Action de la Densonucléose du Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.) sur la sécrétion et l'émission de la substance soyeuse. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, **19**, 13-22.

AMARGIER A., VAGO C., MEYNADIER G., 1965. Étude histopathologique d'un nouveau type de virose mis en évidence chez le Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.). *Arch. Gesamte Virusforch.*, **15**, 659-667.

ASHHURST D. E., RICHARDS A. G., 1964 *a*. A study of the changes occuring in the connective tissue associated with the central nervous system during the pupal stage of the wax moth *Galleria mellonella* (L.). *J. Morphol.*, **114**, 225-236.

ASHHURST D. E., RICHARDS A. G., 1964 *b*. The histochemistry of the connective tissue associated with the central nervous system of *Galleria mellonella* (L.). *J. Morphol.*, **114**, 237-246.

BERGOIN M., BRÈS N., 1968. Lésions tissulaires chez la larve du Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.) atteinte du virus de la Densonucléose. *Bull. Apicole*, **11**, 5-12.

GIRAN F., 1966. Action de la Densonucléose de Lépidoptère sur les Mammifères. *Entomophaga*, **11**, 405-407.

GIRAN F., 1066. Étude sérologique de la Densonucléose du Lépidoptère *Galleria mellonella (L.)* par la méthode de diffusion en gel. Thèse de spécialité Montpellier.

KURSTAK E., GARZON S., GORING I., COTE J. R., 1968. Parasitisme des cellules intestinales de *Galleria mellonella* (L.) par le virus de la densonucléose. *Rev. canad. Biol.*, **27**, 261-265.

MARTOJA R., MARTOJA-PIERSON M., 1967. *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. 345 pages, Masson, Paris.

MEYNADIER G., VAGO C., PLANTEVIN G., ATGER P., 1964. Virose d'un type inhabituel chez le Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.). *Rev. Zool. agric. appl.*, **63**, 207-208.

PIPA R., 1963. Ventral nerve cord shortening, a metamorphic process in *Galleria mellonella* (L.). *Biol. Bull.*, **124**, 293-302.

TRUFFAUT N., BERGER G., NIVELEAU A., MAY P., BERGOIN M., VAGO C., 1967. Recherches sur l'acide nucléique du virus de la densonucléose du Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.). *Arch. Gesamte Virusforsch.*, **21**, (3-4), 469-474.

VAGO C., LUCIANI J., 1965. Développement du virus de la maladie des noyaux denses de *Galleria mellonella* (L.). en cultures de Lépidoptères. *Experientia*, **21**, 394.

VAGO C., DUTHOIT J. L., DELAHAYE F., 1966. Les lésions nucléaires de la virose à noyaux denses du Lépidoptère *Galleria mellonella* (L.). *Arch. Gesamte Virusforsch.*, **18**, 344-349.

VAGO C., MEYNADIER G., DUTHOIT J. L., 1964. Étude d'un nouveau type de maladie à virus chez les Lépidoptères. *Ann. Épiphyties*, **15**, 475-479.

VAGO C., QUIOT J. M., LUCIANI J., 1966. Infection de culture de tissu de Lépidoptères avec le virus purifié de la densonucléose. *C. R. Acad. Sci.* Paris, **263**, 799-800.

WIGGLESWORTH V. B., 1954. The physiology of Insect Metamorphosis, 11-20. Cambridge University Press, Cambridge.

PLANCHE I

FIG. 1

Nymphe de 5 jours. Ébauche imaginale d'un appendice thoracique en voie d'évagination. On observe les différentes étapes de la densification du noyau.

nd : noyau dense
n : noyau à structure chromatinienne normale
Coloration Feulgen × 1 100

FIG. 2

Nymphe de 5 jours. Ébauche imaginale d'un appendice thoracique.

nd : noyau dense
Coloration à l'acridine orange × 120

FIG. 3

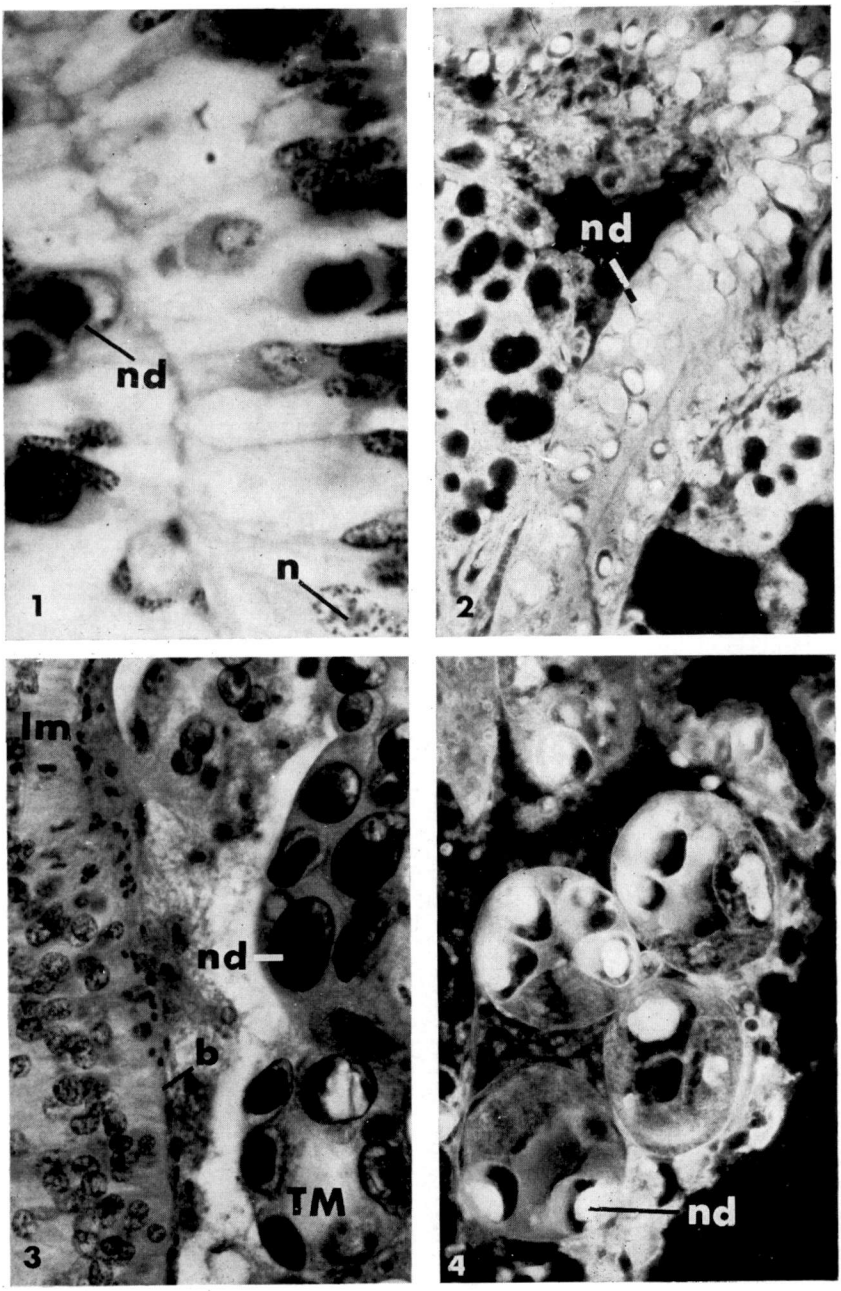
Nymphe de 6 jours. Tubes de Malpighi et épithélium néoformé de l'intestin moyen (im).

b : membrane basale
nd : noyau dense
Coloration Feulgen × 420

FIG. 4

Nymphe de 5 jours. Tubes de Malpighi atteints.

nd : noyau dense
Coloration à l'acridine orange × 120



N. BOEMARE et N. BRES

PLANCHE II

FIG. 5.

Nymphe de 8 jours. Tissu musculaire imaginal sain. n : noyau périphérique. Coloration Feulgen X 250.

FIG. 6.

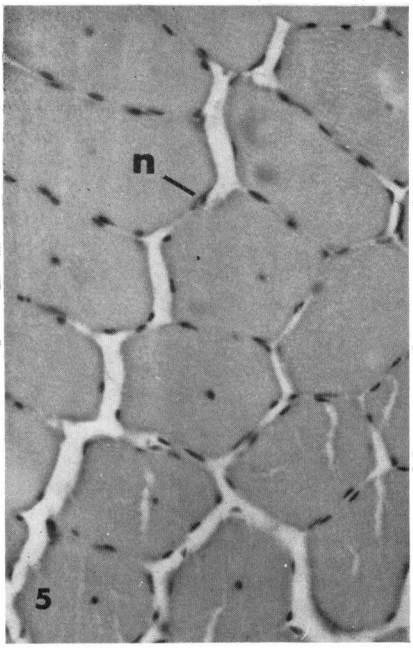
Nymphe de 6 jours. Îlots de tissu musculaire imaginal dans le tissu adipeux larvaire fortement atteint (ta). Noter les noyaux rangés sur le pourtour du sarcoplasme des fibres musculaires (fm). Coloration Feulgen X 260.

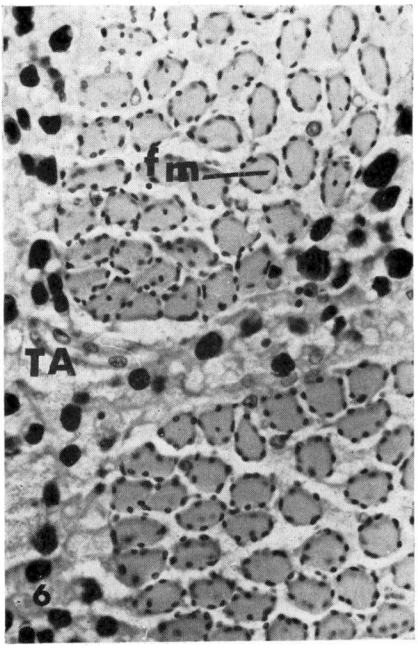
FIG. 7.

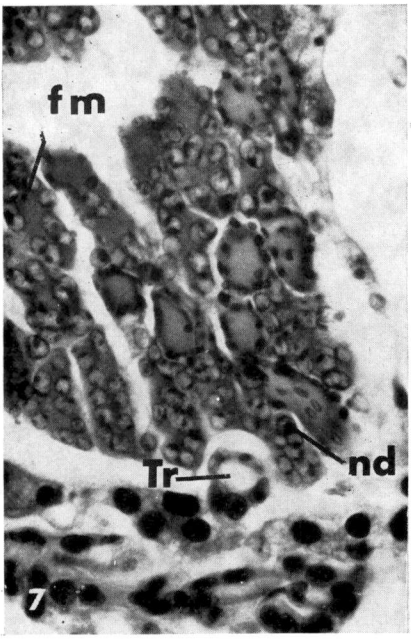
Nymphe de 8 jours. Etape plus avancée dans la lyse du sarcoplasme des fibres musculaires (fm) et des noyaux qui se vacuolisent (nd : noyau dense). Cellules péritrachéales atteintes par la virose (tr). Coloration Feulgen X 380.

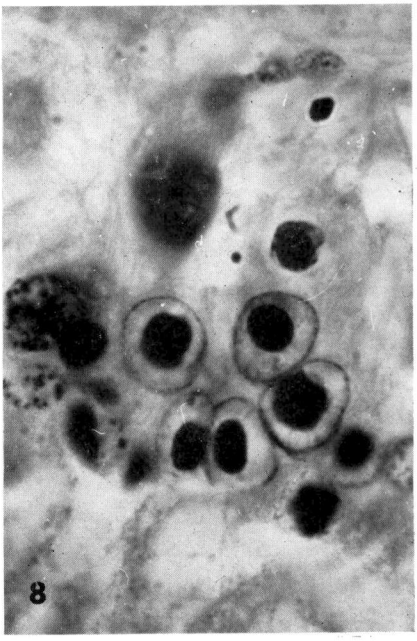
FIG. 8.

Nymphe de 5 jours. Noyaux denses dans le tissu adipeux. Masse Feulgen positive intranucléaire avec épaississement de la membrane nucléaire. Coloration Feulgen X 1 100.









N. BOEMARE et N. BRES

PLANCHE III

FIG. 9.

Nymphe de 8 jours au stade ultime de l'action virale. Tissu nerveux (tn), lamelle neurale (ln) et cellules de la gaine périneurale (p) avec noyaux denses (nd). Coloration Feulgen X 420.

FIG. 10.

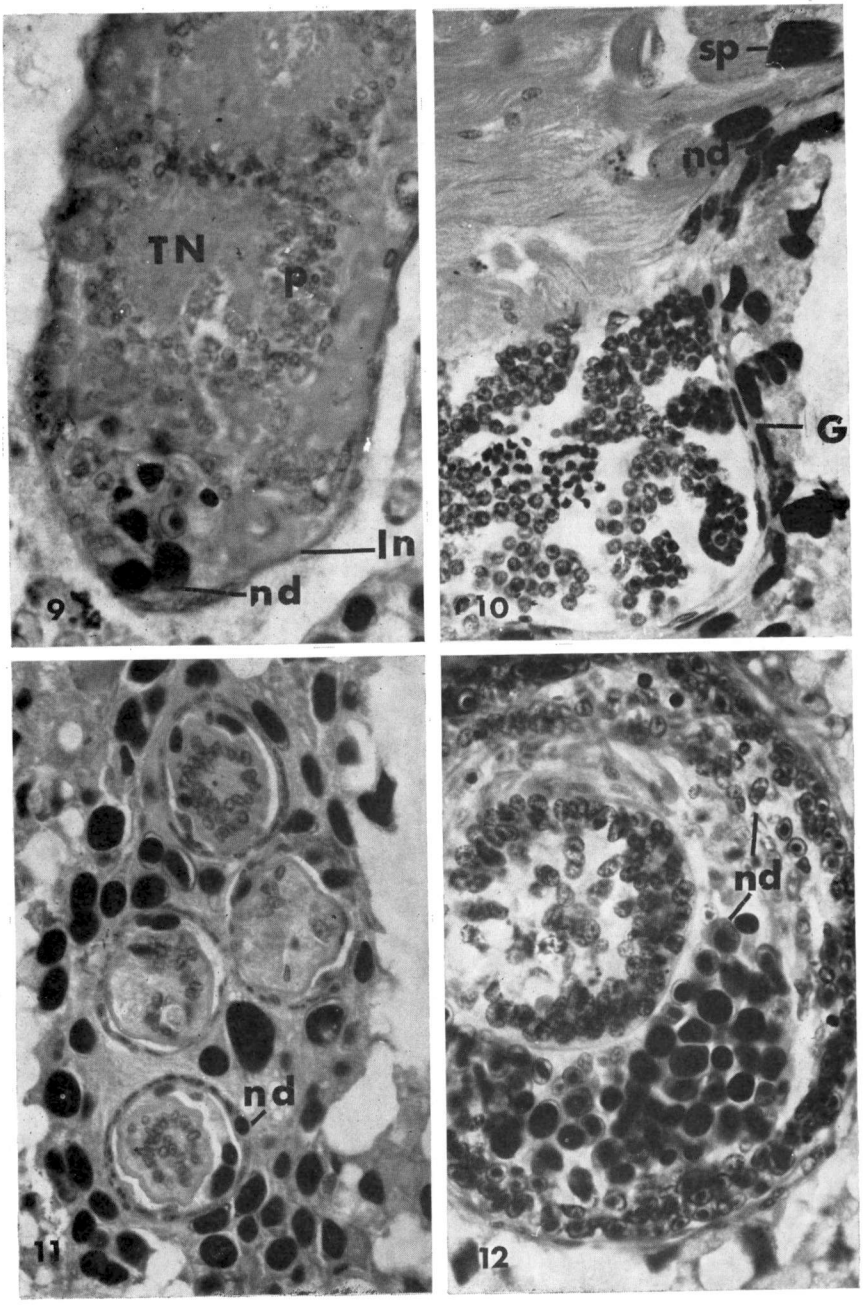
Nymphe de 7 jours. Gonade mâle. Gaine conjonctive (*g*) avec noyaux denses (nd). Paquets de spermatozoïdes (sp.). Coloration Feulgen X 400.

FIG. 11.

Nymphe de 3 jours. Gaines des ovarioles présentant des noyaux denses (nd). Coloration Feulgen X 420.

FIG. 12.

Nymphe de 5 jours. Gonade femelle plus évoluée présentant toutes les étapes de la densification des noyaux (nd), par la virose dans les cellules sexuelles. Coloration Feulgen X 440.



N. BOEMARE et N. BRES

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 321-326.

ÉLEVAGE PERMANENT DU CARPOCAPSE DES POMMES *CARPOCAPSA* (= *LASPEYRESIA*) *POMONELLA* L. SUR MILIEU ARTIFICIEL SIMPLIFIÉ

Claude SENDER

Station de Zoologie,
Centre de Recherches d'Avignon, 84 - Montfavet
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Un milieu artificiel simplifié a été mis au point pour l'élevage du Carpocapse. Plusieurs constituants habituellement employés (cellulose, pépins de pomme, caséine, saccharose, cholestérol, sels minéraux, vitamines B et E) sont remplacés par deux produits peu coûteux : la semoule de maïs et le germe de blé. L'élevage d'individus isolés a permis d'obtenir dix générations successives avec un rendement moyen en adultes de 88 p. 100. Les papillons obtenus présentent une fécondité et une fertilité satisfaisantes. Il semble que ce milieu puisse être encore simplifié.

INTRODUCTION

Les études récentes portant sur de nouveaux procédés de lutte contre le Carpocapse ont incité les chercheurs à maintenir cet insecte en élevage permanent soit pour disposer d'une souche de laboratoire, soit pour organiser une production massive.

Au Canada et aux U. S. A., un élevage de masse a été réalisé sur petites pommes vertes pour des essais de lutte autocide (PROVERBS et NEWTON, 1962 ; HAMILTON et HATHAWAY, 1966). Ces auteurs ont adapté les techniques mises au point par DICKSON (1952).

Les premiers essais d'alimentation artificielle des larves du Carpocapse ont été effectués par THERON (1947) qui a employé de la farine de maïs, mais n'a pas obtenu de résultats satisfaisants. La possibilité d'un élevage sur milieu a été établie par REDFERN (1964). Cet auteur a composé une préparation complexe et riche, du type des formules déjà mises au point par différents auteurs pour des Lépidoptères phytophages (GUENNELON, 1968). Elle comporte en effet un support cellulosique, des

substances végétales brutes (pulpe et pépins de pomme, noix verte) et de nombreux constituants chimiques de composition plus ou moins définie. Le rendement (1) obtenu par REDFERN s'est élevé à 60 p. 100. Par ailleurs, HAMILTON et HATHAWAY (1966), ont réussi à produire 35 générations successives avec un rendement de 60 p. 100, sur deux milieux de formules très proches de celle de REDFERN ; l'une d'elles est enrichie de germe de blé et ne contient pas de pépins de pomme.

Dans le but d'étudier les besoins nutritionnels de *C. pomonella* en acide ascorbique et en acides gras, ROCK (1967) a supprimé la cellulose et la pomme pour confectionner un milieu de type encore complexe. L'auteur le nomme « synthétique » malgré la présence de plusieurs substances chimiquement non-définies. Le rendement en papillons a atteint 79 p. 100 ; une autre préparation, contenant du germe de blé, n'a donné que 60 p. 100 d'adultes.

Une première formule de milieu de type simplifié, à base de pulpe de pomme et de farine de soja, a été récemment publiée par NAVON (1968) en Israël, mais le rendement ne dépasse pas 30 p. 100. Des essais de simplifications sont également en cours au Canada et aux U. S. A.

Dans une première étape, nous avons obtenu 10 générations successives de *C. pomonella* sur un milieu analogue à celui de REDFERN (GUENNELON et SENDER, non publié). Les résultats ont été très satisfaisants puisque le rendement moyen en adultes s'est élevé à 77 p. 100. Toutefois, dans le but de diminuer le prix de revient de ce milieu, trop coûteux pour un élevage important, nous avons recherché et mis au point une formule de composition simplifiée et de valeur nutritive comparable. Les résultats obtenus font l'objet de la présente note.

I. — MÉTHODES EXPÉRIMENTALES ET MATÉRIEL

1. *Composition du milieu*

Reprenant les idées de THERON, d'HAMILTON et HATHAWAY, de ROCK, nous avons introduit deux produits d'origine végétale, la semoule de maïs (2) et le germe de blé. Ceci nous a permis de supprimer certains constituants couramment employés : cellulose, pépins de pomme, saccharose, cholestérol, sels minéraux, vitamines B et E (tabl. 1). La pulpe de pomme, la levure de bière et l'acide ascorbique, utilisés par la plupart des auteurs, sont maintenus. La présence de germe de blé rendant le milieu plus sensible aux microorganismes, de l'auréomycine est ajoutée aux autres substances antimicrobiennes (IGNOFFO, 1963). La composition d'une dose de milieu est la suivante :

Eau distillée	170 cm³
Agar	5 g
Poudre de pulpe de pomme	9 g
Semoule de maïs	10 g
Germe de blé	12 g
Huile de maïs	0,4 cm³
Levure de bière	10 g
Acide ascorbique	1 g
P-hydroxybenzoate de méthyle (= nipagine)	0,30 g
Acide benzoïque	0,30 g
Auréomycine (solution à 1 mg/50 cm³)	1 cm³

(1) Pourcentage d'adultes obtenus par rapport au nombre de larves nouveau-nées placées sur le milieu.

(2) Déjà utilisée par notre collègue S. POITOUT pour ses élevages de Noctuelles.

TABLEAU I

Composition qualitative des différents milieux artificiels utilisés pour l'élevage du Carpocapse et rendement obtenu
(produit présent : +, ou absent : 0)

	Redfern (1964)	Hamilton et Hathaway (1966)	Guennelon et Sender (non publié)	Rock (1967)	Navon (1968)	Sender
Agar	+	+ +	+	+ +	+	+
Cellulose	+	+ +	+	0 0	+	0
Pulpe de pomme	+	+ +	+	0 0	+	+
Pépins de pomme	+	+ 0	+	0 0	0	0
Semoule de maïs	0	0 0	0	0 0	0	+
Germe de blé	0	0 +	0	0 +	0	+
Caséine ou soja	+	+ +	+	+ +	+	0
Cerneaux de noix	+	0 0	0	0 0	0	0
Glycine	+	+ +	0	+ 0	0	0
Cystéine	+	+ +	0	+ +	0	0
Saccharose	+	+ +	+	+ +	+	0
Cholestérol	+	+ +	+	+ 0	0	0
Huile végétale	+	+ +	+	+ +	0	+
Sels minéraux	+	+ +	+	+ +	0	0
Levure de bière	+	+ +	+	0 0	+	+
Vitamines	+	+ +	+	+ +	0	0
Acide ascorbique	+	+ +	+	+ +	+	+
Acide malique	0	0 0	0	0 0	+	0
Produits antimicrobiens	+	+ +	+	+ +	+	+
Rendement	60 %	60 %	77 %	79 % 60 %	25 %	88 %

2. *Fabrication du milieu*

La suspension d'agar dans l'eau est portée à ébullition et refroidie à 56°C avant de lui incorporer l'ensemble des poudres, l'huile de maïs et l'auréomycine. Le tout est mélangé dans un mixeur tournant pendant 2 mn à la vitesse de 15 000 tours/mn. Le milieu est ensuite coulé dans de grandes boîtes parallélépipédiques en polystyrène, puis conservé à 8°C.

3. *Élevage des larves*

Pour estimer la qualité d'un milieu d'élevage il est courant d'utiliser un certain nombre de critères classiques, tels que rendement, durée de développement, longévité et fécondité des adultes. Dans le cas du Carpocapse, l'étude précise de ces critères impose la pratique d'un élevage individuel ; en effet, dans un élevage groupé, la mortalité causée par une nourriture déficiente est difficilement dissociable de celle due au cannibalisme.

Au moment de l'emploi, le milieu est découpé en fragments de 2 cm^3 environ, quantité suffisante pour assurer la croissance totale de la larve. Chaque morceau est placé dans une boîte plastique cylindrique de 50 mm de diamètre et 20 mm de hauteur, fermée par un couvercle étanche. Les larves nouveau-nées sont installées une à une avec un pinceau. L'élevage est effectué dans une pièce conditionnée (25°C, 70 p. 100 H. R., photopériode 18/6).

La larve pénètre rapidement dans le milieu et creuse une galerie dans laquelle elle accomplit tout son développement ; à maturité elle tend à sortir du milieu pour tisser son cocon de nymphose. Nous avons constaté que l'obscurité facilite cette migration et qu'à ce stade la chenille n'est plus cannibale. Les récipients d'élevage sont donc placés à l'obscurité dès le 15e jour qui suit l'installation : les chenilles sont prélevées au fur et à mesure de leur sortie et groupées dans des boîtes cylindriques de 80 mm de diamètre, contenant un rouleau de papier ondulé transparent. Les larves pénètrent rapidement dans les cannelures et s'y nymphosent au bout d'environ 5 jours. La technique

adoptée facilite la manipulation et le stockage des larves : elle permet de disposer à tout moment de lots d'insectes d'âge déterminé (larves 5, prénymphes, nymphes). Éventuellement, si l'expérience l'exige, il est possible d'isoler par sexe les larves et les nymphes, selon la méthode indiquée par PETERSON (1965).

4. *Élevage des adultes et obtention des œufs*

Les papillons sont groupés par couples isolés ou par lots de cinq à dix couples dans des boîtes plastiques cylindriques de 100 mm de diamètre et 80 mm de hauteur, fermées par un couvercle grillagé. Les parois et le fond sont tapissés de papier cristal, très pratique par sa transparence. Un abreuvoir muni d'un coton dentaire contient de l'eau sucrée à 5 p. 100. Les papillons déposent leurs œufs sur le papier qui est renouvelé tous les deux jours. L'élevage s'effectue dans une salle climatisée (20°C, 75 p. 100 H. R.) éclairée par la lumière naturelle. Le développement des œufs dure 7 jours dans ces conditions.

II. — RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

Dix générations successives de *C. pomonella* ont été produites pendant un an sur le milieu décrit. L'élevage se poursuit, ainsi que le contrôle des différents critères retenus (rendement en adultes par rapport aux larves installées, durée du développement larvaire et nymphal, longévité et fécondité des adultes, viabilité des œufs). Trois mille papillons ont été obtenus au cours des dix premières générations. Le rendement a oscillé entre 85 et 90 p. 100. A 25°C, l'émergence des adultes s'effectue entre les 25e et 45e jours qui suivent l'installation des larves nouveau-nées, le maximum se situant entre le 28e et le 34e jour (fig. 1). La durée moyenne du développe-

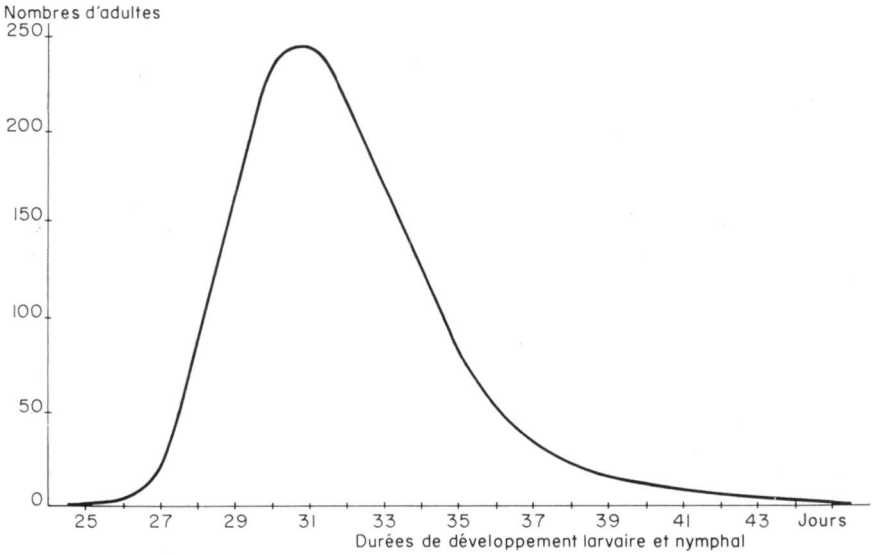


FIG. 1. — *Courbe de répartition des sorties d'adultes obtenus à partir du milieu simplifié* (données portant sur 1 500 papillons)

ment larvaire et nymphal est de 31 jours ; cette durée est légèrement inférieure à celle obtenue dans un élevage sur pomme. La nymphose dure environ 11 jours.

A 20°C, les papillons mâles vivent en moyenne 15 jours, et les femelles 20 jours. Chez les couples isolés, 65 p. 100 des femelles installées sont fertiles et pondent en

moyenne 160 œufs. Dans les essais groupant les papillons par cinq couples, tous les lots présentent une fécondité satisfaisante et donnent des œufs fertiles, avec 73 p. 100 d'éclosions en moyenne (une partie des œufs meurent au stade d'embryon achevé). Les contrôles ont porté sur 6 000 œufs à chaque génération.

Parallèlement à ces études précises comportant des relevés systématiques, nous effectuons depuis un an un élevage de routine plus important qui permet de disposer à tout moment d'insectes des divers stades. A cet effet, cent larves sont installées journellement. Aucun problème de contamination par les microorganismes ou les acariens n'a perturbé l'élevage, malgré le manque d'asepsie rigoureuse ; des précautions classiques de propreté sont toutefois prises, telles que la désinfection du matériel d'élevage.

Les travaux en cours nous permettent de penser que d'autres simplifications pourront être apportées dans la composition du milieu. Il nous est déjà apparu possible de supprimer la poudre de pomme et l'huile de maïs. Un milieu simplifié ne comportant pas ces deux substances a été mis au point par POITOUT et BUES (1969) pour certaines Noctuelles et nous a permis d'élever le Carpocapse de façon satisfaisante. En outre, le remplacement de l'agar par une matière cellulosique naturelle pourrait encore réduire le coût du milieu nutritif, qui, à l'heure actuelle, se situe aux environs de un centime français par adulte obtenu.

Reçu pour publication en mai 1969.

SUMMARY

CONTINUOUS REARING OF THE CODLING MOTH,
CARPOCAPSA (LASPEYRESIA) POMONELLA L., ON A SIMPLE ARTIFICIAL DIET

A simple artificial diet was prepared for rearing cloding moths. Several of the ingredients, that are generally used (cellulose, apple seeds, casein, saccharose, cholesterol, mineral salts, vitamins B and E), are replaced by two inexpensive products : corn semolina and wheat germ. The individual rearing has made it possible to obtain ten consecutive generations. An average of 88 p. 100 of the larvae placed on the diet emerged as normal adults. The fecundity and fertility of the moths are satisfactory. It seems possible that the diet can be still further simplified.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DICKSON R. C., BARNES M. M., TURZAN Cl., 1952. Continuous rearing of the codling moth. *J. econ. Entomol.*, **45**, 66-68.

GUENNELON G., 1968. L'alimentation artificielle des larves de Lépidoptères phytophages. *Ann. Épiphyties*, **19**, 539-570.

HAMILTON D. W., HATHAWAY D. O., 1966. Codling moths. In SMITH C. N. *Insect colonization and mass production*, chap. 22, 339-354. Acad. Press New York, London.

IGNOFFO C. M., 1963. A successful technique for mass rearing cabbage loopers on a semi-synthetic diet. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **56**, 178-182.

NAVON A., 1968. Progress report on rearing of the codling moth. In *Radiation, radioisotopes and rearing methods in the control of insect pests*, 105-106. I. A. E. A., Vienna.

PETERSON D. M., 1965. A quick method for sex determination of codling moth pupae. *J. econ. Entomol.*, **58**, 576.

POITOUT S., BUES R., 1969. *Élevage comparé de différentes espèces de Lépidoptères* Noctuidae *sur milieux artificiels riche et simplifié* (à paraître).

PROVERBS M. D., NEWTON J. R., 1962. Effect of heat on the fertility of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (L.) (*Lepidoptera = Olethreutidae*). *Canad. Entomol.*, **94**, 225-233.

REDFERN R. E., 1964. Concentrate medium for rearing the codling moth. *J. econ. Entomol.*, **57**, 607-8.

ROCK G. C., 1967. Aseptic rearing of the codling moth on synthetic diet : Ascorbic acid and fatty acids requirements. *J. econ. Entomol.*, **60**, 1002-1005.

THERON P. P. A., 1947. Studies on the provision of hosts for the mass rearing of codling moth parasites. *Union S.-Afr. Sci. Bull.*, **262**, 1-45.

VANDERZANT E. S., DAVICH T. B., 1958. Laboratory rearing of the boll weevil : A satisfactory larval diet and oviposition studies. *J. econ. Entomol.*, **51**, 288-291.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 327-337.

TWO KNOWN AND THREE NEW SPECIES OF NEMATODES ASSOCIATED WITH FIBROUS CROPS IN INDIA

QAISER H. BAQRI, M. SHAMIM JAIRAJPURI

Section of Nematology, Department of Zoology, Aligarh Muslim University, Aligarh, U. P., (India)

SUMMARY

Two known and three new species of nematodes belonging to the genera *Tylenchus* (BASTIAN, 1865), *Telotylenchus* (SIDDIQI, 1960), and *Discolaimium* (THORNE, 1939), were found in soil around roots of fibrous crops in India. The known species *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *tumidus* (COLBRAN, 1960 ; JAIRAJPURI, 1966), and *Discolaimium bulbiferum* (COBB, 1906) ; TIMM and BHUIYAN, 1963), are new records for India. The new species, *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri* n. sp., 0.47-0.68 mm. long having 9-10 μ long spear ; excretory pore 2-4 annules posterior to hemizonid ; the entire tail annulated and tail tip swollen but irregularly notched. *Telotylenchus aerolatus* n. sp., 0.67-0.84 mm. long having 16-18 μ long spear ; aerolated lateral fields ; lip region marked with 8-9 striae and tail 2.5 to 3.7 anal body widths long. *Discolaimium mukhtarpuriensis* n. sp., 0.90-1.18 mm. long ; having deep amphidial pouches ; spear 16-18 μ long ; spear extension 15-17 μ ; basal enlarged portion of esophagus about one-third of the total esophageal length and tail dorsally convex-conoid with a rounded tip, about one and a half anal body widths long.

During the survey of nematodes of fibrous crops in India the following species were recorded : *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *tumidus* (COLBRAN, 1960), JAIRAJPURI, 1966), *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri* [1] n. sp. ; *Telotylenchus aerolatus* n. sp. ; *Discolaimium bulbiferum* (COBB, 1906 ; TIMM and BHUIYAN, 1963), and *Discolaimium mukhtarpuriensis* n. sp. The known species are here recorded for the first time from India.

All the specimens used in this study were killed in hot 4 p. 100 formalin and mounted in dehydrated glycerine by the slow method. Type material is deposited with the Zoology Museum of Aligarh Muslim University, Aligarh, U. P., India.

[1] Named after Dr. M. RITTER.

GENUS TYLENCHUS BASTIAN, 1865
SUBGENUS CLAVILENCHUS (1) JAIRAJPURI, 1966

Tylenchus (*Clavilenchus*) *tumidus* (COLBRAN, 1960) JAIRAJPURI, 1966

Dimensions:

Females (6) :

L = 0.42-0.57 mm ; *a* = 27-42 ; *b* = 4.8-6.5 ; *c* = 7-9 ; V = 73-86

Males (6) :

L = 0.41-0.56 mm ; *a* = 27-39 ; *b* = 5.2-6.5; *c* = 7-10 ; T = 43-56

Habitat:

Soil around roots of cotton, *Gossypium* sp., from Mukhtarpur, District Bijnore, U. P., India.

Tylenchus (*Clavilenchus*) *ritteri* n. sp. (fig. 1)

Dimensions:

i) *Deoband population* (Type population):

Females (4) :

L = 0.48-0.59 mm ; *a* = 29-37 ; *b* = 4.5-5.3 ; *c* = 9-13 ; V = 72-77

Female (holotype) :

L = 0.61 mm ; *a* = 38 ; *b* = 5.1; *c* = 9 ; V = 75

Male (1) :

L = 0.59 mm ; *a* = 34 ; *b* = 5.1 ; *c* = 9 ; T = 30

ii) *Malpura population:*

Females (3) :

L = 0.57-0.68 mm ; *a* = 34-38 ; *b* = 5.3-6.5 ; *c* = 9-11 ; V = 71-75

Males (2) :

L = 0.47-0.61 mm ; *a* = 36-44 ; *b* = 5.9-6.1 ; *c* = 9 ; T = 29-42

Description:

Female.

Body slightly ventrally arcuate when relaxed. Cuticle with distinct transverse striations, each about 1 μ apart. Lateral fields about a quarter of body width, marked with four incisures. Amphidial apertures 3 μ wide, slit-like, situated posterior to base of lateral lips. Deirids not seen. Hemizonid prominent, 2-4 annules above the excretory pore.

Head slightly set off by a depression from the body, smoothly rounded. Spear slender, 9-10 μ, knobbed at base, the anterior tapering tip 3-4 μ. Orifice of the dorsal esophageal gland situated 3 μ behind base of spear. Distance from anterior end of body to the centre of the median bulb about half of the distance from the latter to the base of esophagus. Corpus ovate with distinct valvular apparatus. Isthmus

(1) After this paper was sent for publication, Thorne and Malek (1968) have raised the subgenus *Clavilenchus* Jairajpuri, 1966 to and Independent genus *Clavilenchus* (Jairajpuri, 1966) Thorne and Malek, *Tylenchus (Clavilenchus) ritteri* now becomes *Clavilenchus ritteri.*

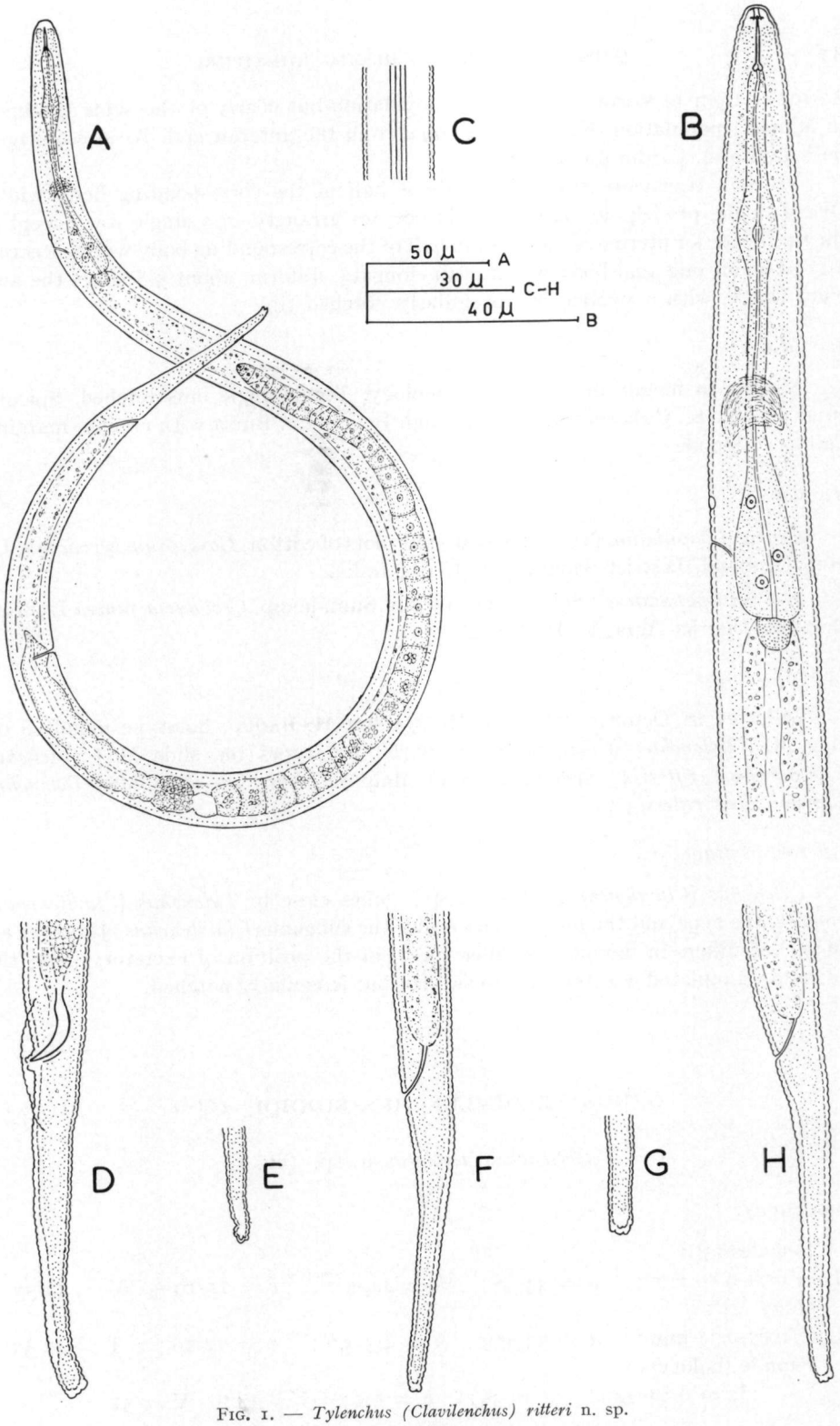


FIG. 1. — *Tylenchus (Clavilenchus) ritteri* n. sp.

A: Entire female; B: Esophageal region; C: Lateral field;
D: Tail end, male; F and H: Tail ends, female; E and G: Tail tips

narrower than procorpus in Deoband population but nearly of the same thickness in Malpura population. Nerve ring 57-69 μ from the anterior end. Basal esophageal bulb pyriform. Cardia rounded.

Vulva a transverse slit. Vagina about half of the corresponding body width. Ovary single, prodelphic, outstretched ; oocytes arranged in a single row except at the tip. Posterior uterine sac more than half of the corresponding body width. Rectum 9-11 μ, about one anal body width. Tail elongate, filiform, about 5-8 times the anal body width, with a swollen but irregularly notched tip.

Male.

Similar to female in general morphology. Testis single outstretched. Spicules 16-17 μ, arcuate. Gubernaculum 4-5 μ, slightly arcuate. Bursa with crenate margins. Tail as in female.

Habitat :

Deoband population (Type) : Soil around roots of cotton, *Gossypium herbaceum* L., from Deoband, District Saharanpur, U. P., India.

Malpura population : Soil around roots of Sunn hemp, *Crotalaria juncea* L., from Malpura, District Agra, U. P., India.

Type specimens :

Collected in October 1966, by Mr. QAISER H. BAQRI ; holotype mounted on slide MSJ/*Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri*/1 ; paratypes on slide MSJ/*Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri*/2 ; specimens from Malpura, Agra on slide MSJ/*Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri*/3.

Differential diagnosis :

Tylenchus (*Clavilenchus*) *ritteri* n. sp., comes close to *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *tumidus*, the type and the only species under the subgenus *Clavilenchus* (JAIRAJPURI, 1966), but differs in having a smaller spear, in the position of excretory pore, the entire tail annulated and the tail tip swollen but irregularly notched.

GENUS TELOTYLENCHUS SIDDIQI, 1960

Telotylenchus aerolatus n. sp. (fig. 2)

Dimensions :

Females (3) :
L = 0.71-0.80 mm ; a = 34-38 ; b = 4.4-5.7 ; c = 15-19 ; V = 52-55
Males (4) :
L = 0.67-0.74 mm ; a = 33-37 ; b = 4.3-4.6 ; c = 12-16 ; T = 47-55
Female (holotype) :
L = 0.84 mm ; a = 35 ; b = 5.1 ; c = 14 ; V = 51

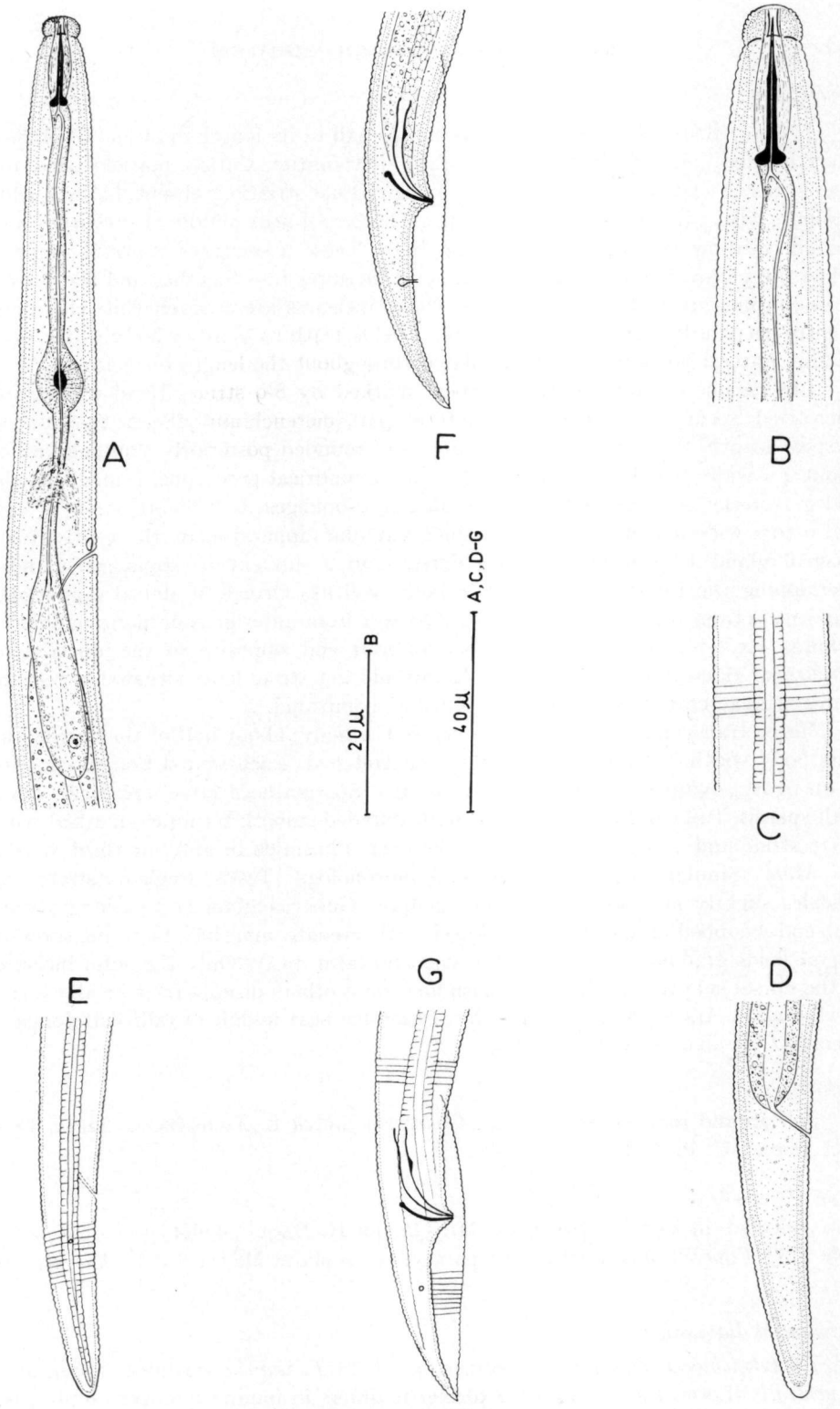


FIG. 2. — *Telotylenchus aerolatus* n. sp.

A: Esophageal region; B: Head end, C: Lateral field near middle of body; D and E: Female tails; F and G: Male tails

Description:

Female: Body slightly curved in posterior half of its length or often "C" shaped when relaxed and tapering slightly towards extremities. Cuticle marked with distinct transverse striae about 1 μ apart. Longitudinal striations absent. Lateral fields originate with 2 incisures near base of spear, become 3 near middle of procorpus and 4 slightly below the median esophageal bulb. These 4 incisures continue slightly below the phasmids on tail, then the inner 2 incisures fuse together and the 3 incisures continue up to the tail terminus. Outer incisures are crenate while the inner slightly irregularly wavey. Width of lateral fields 1/4th to 1/3rd of body width near middle. Lateral fields irregularly aerolated throughout the length of incisures.

Lip region well set off, flat at apex, marked by 8-9 striae. Head framework sclerotized. Spear 16-18 μ long, stout, anterior part (metenchium) 7-8 μ or 43-44 p. 100 of spear length. Base of spear with 3 large and rounded posteriorly slopping knobs, about 4 μ wide. Esophagus consists of a long cylindrical procorpus, a median bulb and a posterior esophageal gland lobe. Median esophageal bulb ovate, 14-15 μ long and 9-10 μ wide and with a very distinct valvular apparatus in the centre. Esophageal gland lobe formed by one dorsal and 2 subventral esophageal glands, overlapping the intestine for about 2 body widths. Orifice of dorsal esophageal gland 1-2 μ from spear base. Nerve ring 89-104 μ from anterior end, along middle of isthmus. Excretory pore 104-114 μ from anterior end, opposite to the junctinn of esophageal gland lobe with intestine. Hemizonid 2-3 striae long, situated 1-7 striae above the excretory pore. Deirids at level of hemizonid.

Vulva transverse. Vagina 10-12 μ across the body, about half of the corresponding body width. Gonads amphidelphic, outstretched. Each sexual branch consists of an ovary, oviduct, spermatheca and uterus. Spermatheca large, spherical, filled with sperms. Tail elongate, cylindrical with rounded smooth terminus, marked with 31-37 striae and 2.9-3.7 anal body widths long. Phasmids in anterior third of tail.

Male: Similar to female in general morphology. Testis single outstretched. Spicules slightly arcuate, 22-24 μ long medialy. Gubernaculum 11-13 μ long, proximal end knobbed. Bursa well developed with crenate margins. Four incisures of lateral fields gradually expand on tail end and faint away. Only the outer incisure of the dorsal side reaches beyond phasmids, the 3 others disappear at or above the level of anus. Anus with protruding lips. Phasmids near middle of tail. Tail elongate conoid, 2.5-3 anal body widths long.

Habitat:

Soil around roots of Sunn hemp, *Crotalaria juncea* L., from Barwe Sagar, District Jhansi, U. P., India.

Type specimens :

Collected in October 1967, by Mr. QAISER H. BAQRI ; holotype mounted on slide MSJ/*Telotylenchus aerolatus*/1 ; paratypes on slides MSJ/*Telotylenchus aerolatus*/2-4.

Differential diagnosis:

Telotylenchus aerolatus n. sp., comes closest to *T. indicus* (SIDDIQI, 1960), and *T. ventralis* (LOOF, 1963). From the former it differs in having a longer esophagus,

larger number of striae on the lip region, orifice of dorsal esophageal gland close to spear base, prominent hemizonid, metenchium shorter than posterior cylindrical shaft of the spear, posteriorly slopping spear knobs and differently shaped spicules. From *T. ventralis* it differs in having longer esophagus, no expansion and contraction of body near vulva, differently shaped and shorter spicules. From both these species it can also be separated in having aerolated lateral fields, inner incisures wavy and in the manner of determination of incisures on female tail.

GENUS DISCOLAIMIUM THORNE, 1939

Discolaimium bulbiferum (COBB, 1906 ; TIMM and BHUIYAN, 1963)

Dimensions :

i) *Ghazipur population :*

Females (6) :

L = 1.46-1.66 mm ; a = 54-60 ; b = 4.4-5.0 ; c = 33-47 ; V = $^{6-8}44\text{-}47^{6-7}$

ii) *Ajanta population :*

Female (1) :

L = 1.52 mm ; a = 46 ; b = 4.7 ; c = 46 ; V = $^{8}46^{7}$

Description :

Cuticle smooth, about 1 μ thick. Lateral chords about one-fourth to one-fifth body width near middle. Glandular organs 100-115, irregularly arranged. Spear 10-13 μ long, about equal to head width. Spear guiding ring 6-8 μ from anterior end. Spear extensions 18-21 μ in length. Basal expanded portion of esophagus occupies 51-54 p. 100 of the total esophageal length (about 2/3rd according to TORNE, 1939). Prerectum 40-48 μ, about 2-3 times the anal body width. Tail dorsally convex-conoid, terminus subacute, more than two anal body widths long.

Habitat :

Ghazipur population : Soil around roots of Patson, *Habiscus cannabinus* L., from Ghazipur, U. P., India.

Ajanta population : Soil around roots of Sunn hemp *Crotalaria juncea* L., near Ajanta caves, Maharashtra, India.

Discolaimium mukhtarpuriensis n. sp. (fig. 3)

Dimensions : i) Ghazipur population

i) *Mukhtarpur population* (Type population) :

Females (2) :

L = 1.12-1.16 mm ; a = 33-34 ; b = 4.1-4.8 ; c = 35-41 ; V = $^{7-8}52\text{-}57^{9-10}$

Female (holotype) :

L = 1.18 mm ; a = 33 ; b = 5.0 ; c = 38 ; V = $^{11}53^{14}$

ii) *Pahasu population :*

Female (1) :

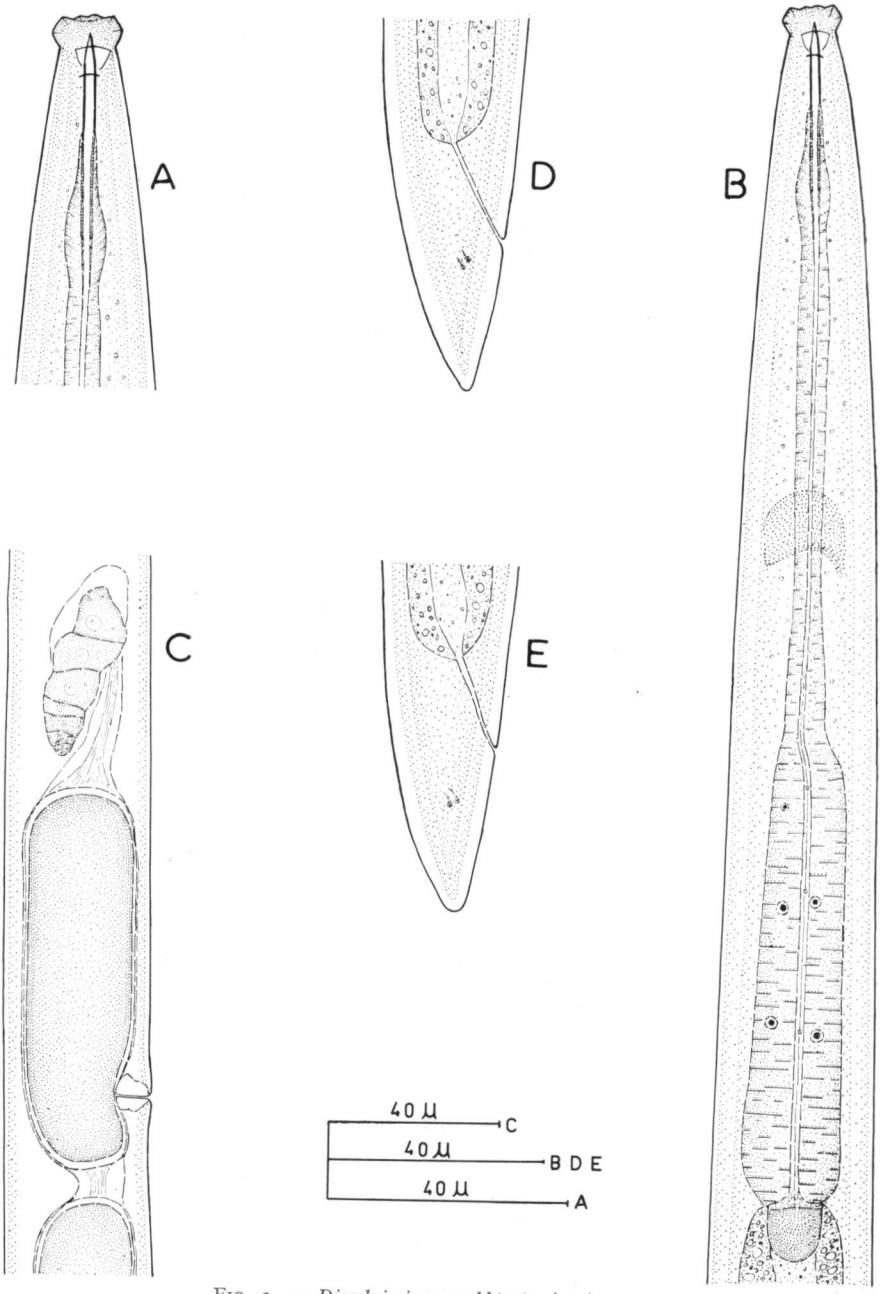


FIG. 3. — *Discolaimium mukhtarpuriensis* n. sp.
A: Head end; B: Esophageal region;
C: Anterior sexual branch; D and E: Tail ends

L = 0.90 mm ; $a = 35$; $b = 4.5$; $c = 31$; $V = {}^{9}57^{11}$

iii) *Nagla Fatehabad population :*

Female (1) :

L = 1.08 mm ; $a = 32$; $b = 4.4$; $c = 32$; $V = {}^{11}54^{11}$

iv) *Ghazipur population :*

Females (2) :

L = 1.10-1.14 mm ; $a = 37$-39 ; $b = 4.8$; $c = 31$-37 ; $V = {}^{9-12}52$-53^{8-9}

Description :

Body slightly curved in posterior third of its length when relaxed and tapering gradually anterior to slender part of esophagus. Cuticle smooth, its thickness varies between 1-3 μ at various places in the body (3 μ thick at tail). Subcuticle with faint striations, less than 1 μ thick. Head well set off, its width less than half of body width at base of esophagus. Lips somewhat conoid, modifying the head contour and bearing the usual number of cephalic papillae. Lateral chords one-fourth to one-fifth of body width near middle. Amphids cup-like, their apertures 4-5 μ from anterior end and occupying 5-6 μ or more than one half of corresponding body width. Sensillar pouches not seen.

Spear 16-18 μ long, cylindrical ; aperture 5-6 μ. Guiding ring 9-10 μ from anterior end. Spear extension simple, 15-17 μ. Basal expanded portion of esophagus occupies 33-36 p. 100 of the total esophageal length, its width about one half of body width at base of esophagus and 1/5-6th of its own length. Opening of the dorsal esophageal gland 134-152 μ or 57-63 p. 100 of the esophageal length from anterior end. The first pair of subventral esophageal glands open 21-26 μ from the dorsal esophageal gland opening ; the second pair opens 27-30 μ behind the opening of the first pair. Nerve ring 99-114 μ from anterior end. Cardia rounded, esophago-intestinal disc present.

Vulva is a transverse slit. Vagina 9-10 μ extending about one-third to one-fourth across the body. Gonads amphidelphic. Combined length of oviduct and uterus 80-125 μ and 104-126 μ of the anterior and posterior sexual branch respectively. No sperms in the uteri. Ovaries reflexed ; oocytes arranged in a single row except at the tip. Size of eggs 85-89 × 24-32 μ. Prerectum 72-102 μ or about 3 1/2 to 5 1/2 times the anal body width. Rectum 18-22 μ. about equal to anal body width. Tail dorsally convex-conoid with a rounded treminus, about one and a half anal body widths long. Two minute caudal pores present.

Male : Not found.

Habitat :

Mukhtarpur population (Type) : Soil around roots of cotton, *Gossypium herbaceum* L., from Mukhtarpur, District Bijnore, U. P., India.

Pahasu population : Soil around roots of Sunn hemp, *Crotalaria juncea* L., from Pahasu, District Bulandshahr, U. P., India.

Nagla Fatehabad population : Soil around roots of Patson, *Hibiscus cannabinus* L. from Nagla Fatehabad, District Bulandshahr, U. P., India.

Ghazipur population : Soil around roots of cotton, *Gossypium hirsutum* L., from Ghazipur, U. P., India.

Type specimens:

Collected in November, 1966, by Mr. QAISER, H. BAQRI ; holotype along with 2 paratypes on slide MSJ/*Discolaimium mukhtarpuriensis*/1. Specimens from Pahasu, Nagla Fatehabad and Ghazipur on slides MSJ/*Discolaimium mukhtarpuriensis*/2-4.

Differential diagnosis:

Discolaimium mukhtarpuriensis n. sp., comes close to *D. simplex* (SIDDIQI, 1965) but differs in having a smaller and stouter body ; deep amphidial pouches, smaller spear extension, smaller enlarged portion of esophagus and vulva postequatorial.

Reçu pour publication en juillet 1968.

ACKNOWLEDGMENT

One of us (Q. H. B.) gratefully acknowledges the financial assistance provided to him by the Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.

RÉSUMÉ

DEUX ESPÈCES CONNUES ET TROIS ESPÈCES NOUVELLES DE NÉMATODES ASSOCIÉES AUX CULTURES DE PLANTES A FIBRES EN INDE

Cinq espèces appartenant aux genres ; *Tylenchus* (BASTIAN, 1865), *Telotylenchus* (SIDDIQI, 1960), et *Discolaimium* (THORNE, 1939), ont été trouvées dans les sols au voisinage de racines de chanvre en Inde. Parmi ces cinq espèces, trois sont nouvelles. Les deux autres : *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *tumidus* (COLBRAN, 1960 ; JAIRAJPURI, 1966) et *Discolaimium bulbiferum* (COBB, 1906 ; TIMM and BHUIYAN, 1963), sont signalées pour la première fois dans ce pays. *Tylenchus* (*Clavilenchus*) *ritteri* n. sp., se caractérise par une taille comprise entre 0,47-0,68 mm ; un stylet de 9 à 10 µ ; la position du pore excréteur, 1 à 4 anneaux après l'hémizonide, une queue entièrement annelée munie d'une extrémité lisse mais irrégulièrement découpée.

Telotylenchus aerolatus n. sp., 0,67-0,84 mm. possède un stylet atteignant 16-18 µ ; ses champs latéraux sont aérolés et la région labiale marquée par 8 à 9 stries ; sa queue dépasse de 2,5 à 3,7 fois le diamètre anal.

Discolaimium mukhtarpuriensis n. sp. 0,90-1,18 mm, porte de profondes chambres amphidiales ; le stylet mesure 16 à 18 µ et son extension 15-17 µ ; la partie basale élargie de l'œsophage (bulbe) atteint 2/3 de la longueur totale de l'œsophage ; la queue est dorsalement convexe-conique avec une extrémité arrondie, sa longueur dépasse d'une fois et demie la largeur du corps à l'anus

REFERENCES

COLBRAN R. C., 1950. Studies of plant and soil nematodes. 3. *Belonolaimus hastulatus, Psilenchus tumidus and Hemicycliophora labiata*, three new species from Queensland. *Qd. J. agric. Sci.*, **17**, 175-181.

JAIRAJPURI M. S., 1966. A redefinition of *Psilenchus* DE MAN, 1921 and *Tylenchus* subgenus *Filenchus* Andrassy, 1954 with the erection of *Clavilenchus* N. subgenus under *Tylenchus* BASTIAN, 1865. *Nematologica*, **11**, 619-622.

LOOF P. A. A., 1963. A new species of *Telotylenchus* (Nematoda : Tylenchida). *Nematologica*, **9**, 76-80.

SIDDIQI M. R., 1960. *Telotylenchus*, a new nematode genus from North India (Tylenchida : Telotylenchinae n. subfam.). *Nematologica*, **5**, 73-77.

SIDDIQI M. R., 1965. Five new species of soil nematodes in the genera *Dorylaimoidas* THORNE AND SWANGER, 1936 and *Discolaimium* THORNE, 1939, from India. *Nematologica*, **11**, 100-108.

THORNE G., 1939. A monograph of the nematodes of the superfamily *Dorylaimoidea*. *Capita Zool.*, **8**, 1-261.

THORNE G., MALEK R. B., 1968. Nematodes of the Northern Great Plains Part I *Tylenchida (Nemata : Secernantea)*. *Tech. Bull. agric. Exp. Stn. S. Dak. State Univ.* **31**, I-III.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 339-356.

L'ULTRASTRUCTURE DES ORGANES SENSORIELS DES INSECTES

Y. SINOIR

Laboratoire d'Entomologie,
Faculté des Sciences, 91 - Orsay
Station centrale de Zoologie,
Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles
Institut national de la Recherche agronomique

INTRODUCTION

A la fin du siècle dernier et dans le premier quart du XX^e siècle, de très nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des structures sensorielles des insectes. En 1926, SNODGRASS faisait la synthèse de toutes ces recherches et pouvait dégager les caractères communs de l'organisation des sensilles ; en outre, reprenant, complétant et précisant les catégories distinguées dès 1903 par SCHENK, il proposait une classification générale des divers types d'organes sensoriels, classification basée surtout sur la morphologie des différenciations cuticulaires.

Depuis 1926, les recherches en microscopie optique ont conduit à étendre l'inventaire de l'équipement sensoriel à divers insectes non encore étudiés de ce point de vue, et à essayer d'identifier les types reconnus conformément à la classification de SNODGRASS. Cependant, malgré les nombreux mémoires parus, la connaissance de l'organisation générale des sensilles est pratiquement restée pendant plus de 30 ans sans progresser ; on pourra s'en rendre aisément compte, par exemple, à la lecture de la dernière édition du précis d'Entomologie de IMMS publiée en 1957. Cette stagnation n'a rien qui puisse surprendre : depuis plusieurs décades, en effet, les dimensions des structures les plus fines observées et décrites se situent à la limite du pouvoir de résolution théorique du microscope optique.

Avec l'avènement du microscope électronique, il fallait s'attendre à ce que nos connaissances fassent un bond en avant. Dès 1952, RICHARDS consacre une importante étude aux différenciations cuticulaires des « plate organs » du flagelle de l'antenne des abeilles. DETHIER et WOLBARSTH en 1956, étudient l'extrémité des soies sensorielles du labelle chez *Phormia regina* MEIG. En 1960, EDWARDS, passant en revue les premiers résultats obtenus en microscopie électronique chez les insectes, ne donne encore que deux références dans le chapitre sur les sensilles. Dès l'année suivante, cependant, SLIFER (1961) peut publier une première mise au point consacrée à l'ultrastructure des organes sensoriels. Depuis cette date, les travaux se sont multipliés. C'est pourquoi une nouvelle mise au point n'a pas semblé dépourvue d'intérêt.

Nous résumerons d'abord les recherches d'ultrastructure sur les divers types morphologiques de sensilles, en omettant cependant les organes photorécepteurs dont l'organisation, très particulière, n'a pas été envisagée ici.

Puis nous verrons quelles notions générales il est possible de dégager de ces travaux et comment ils peuvent aider à comprendre le rôle et le fonctionnement des organes sensoriels.

REVUE DES DIVERS TYPES DE SENSILLES

Depuis la parution de la monographie de SNODGRASS (1926) on s'accorde à reconnaître que la plupart des sensilles d'insectes comprennent généralement deux parties : 1° des différenciations cuticulaires particulières ; 2° un ensemble de cellules spécialisées au niveau de l'épiderme.

Les différenciations à la surface ou dans l'épaisseur de la cuticule (Poils longs, soies courtes, cônes, plaques etc.) ont servi de base, comme nous venons de le rappeler, à la classification morphologique des sensilles. Les cellules spécialisées comprennent un ou plusieurs neurones bipolaires et des cellules annexes, le plus souvent au nombre de deux : la cellule trichogène et la cellule tormogène. La cellule trichogène (« Enveloppping cell ») entoure le dendrite distal ; on la tient pour responsable de l'élaboration des formations cuticulaires. La cellule tormogène (« Cap cell ») enveloppe le plus souvent l'ensemble des parties cellulaires de la sensille. Il y a, assez fréquemment, appliquées contre le péricaryon du neurone, une ou plusieurs cellules aplaties, les cellules neurilemmes ou cellules de Schwann. Enfin, dans plusieurs types de sensilles, le ou les dendrites distaux sont enfermés, sur une partie de leur trajet, dans une gaine le plus souvent rattachée à la base de la cuticule. On a souvent donné à cette formation le nom de gaine scolopoïde, car on pensait voir en elle l'homologue du corps scolopal des organes chordotonaux ; certains auteurs mettent en doute cette opinion (MOULINS, 1968). Aussi parle-t-on plus souvent maintenant de gaine cuticulaire (SCHNEIDER et STEINBRECHT, 1968) ou de canalicule (MOULINS, 1968).

Pour chaque type de sensille que nous allons passer en revue, nous rappellerons d'abord rapidement les caractères particuliers que le microscope optique a mis en évidence et nous insisterons ensuite sur ce que l'étude de l'ultrastructure a permis de préciser ou de découvrir.

I. « SENSILLA CHAETICA » ET « TRICHODEA »

A. — *Structure en microscopie optique*

La distinction entre *trichodea* et *chaetica* n'est pas nette ; certains auteurs confondent ces deux types : il s'agit, en tout cas, de poils creux à base articulée. Deux catégories paraissent pouvoir être distinguées.

1. *Des soies à une seule cellule sensorielle* : SNODGRASS (1926) en a dressé le schéma, confirmé depuis par bien d'autres auteurs chez divers groupes d'insectes. A ce schéma, les plus récents travaux de microscopie optique n'ont guère apporté de modification (SLIFER, 1966 ; LE BERRE *et al.*, 1967 ; SINOIR *et al.*, 1968). Le dendrite distal et sa gaine scolopoïde s'attachent à la base du poil. L'électrophysiologie a clairement démontré, dans plusieurs cas, ce que l'observation de la structure faisait pressentir : ces soies sont des mécanorécepteurs (DETHIER, 1963 ; SCHWARTZKOPFF, 1964 ; THURM, 1965 *b*).

2. *Des soies à plusieurs cellules sensorielles* : elles possèdent une sensibilité mécanique incontestable associée à des sensibilités chimiques variées (DETHIER, 1963). C'est le cas des poils labellaires et tarsaux de divers diptères (*Calliphoridae* et *Muscidae*) qui ont fait l'objet de nombreuses recherches. DETHIER (1955) a représenté un schéma précis de ce type de sensille pour *Phormia regina* MEIG. : le poil est percé de deux canaux ; le plus petit, latéral, a une paroi beaucoup plus épaisse. Trois neurones sont figurés, le dendrite distal de l'un d'eux se terminant à la base du poil, les deux autres pénétrant dans le canal à paroi épaisse. La pointe du poil se termine par une papille sensible à divers agents chimiques. STÜRCKOW (1961) mentionne la présence, à la base de la soie, d'une gaine enfermant les dendrites.

B. — *Ultrastructure*

1. *Soies mécanoréceptrices*

SLIFER (1961) fait une brève étude des poils tactiles des plaques génitales chez *Melanoplus differentalis* UHLER ; elle remarque surtout qu'à l'intérieur de l'extrémité distale de la gaine scolopoïde, au niveau où elle s'élargit pour s'attacher à la base du poil, le dendrite unique paraît présenter des ramifications latérales.

SLIFER et SEKHON (1962) donnent quelques images de coupes des poils mécanorécepteurs de l'antenne chez *Aedes aegypti* L. Ces poils présentent une curieuse section hexagonale étoilée.

Plusieurs travaux récents, sur lesquels nous avons particulièrement porté notre attention, décrivent l'ultrastructure des soies mécanoréceptrices ; ce sont : 1° celui de THURM (1964) sur l'Abeille ; 2° celui de GUTHRIE (1966) sur *Schistocerca gregaria* FORSK. ; 3° le travail de NICKLAUS, LUNDQUIST et WERSÄLL (1967) sur la blatte *Periplaneta americana* L. ; 4° enfin l'étude de MOECK (1968) sur les antennes du Scolytide *Trypodendron lineatum* OLIVIER.

Nous rappellerons d'abord sommairement les principales observations de THURM (1964) sur les poils des plaques cervicales de l'Abeille. Selon cet auteur, le dendrite distal présente une organisation en trois zones : 1° la partie moyenne montre, en coupe, deux anneaux concentriques de 9 paires de fibrilles ; 2° l'extrémité distale plus large contient 50 à 100 tubules plus ou moins spiralés qui forment, à l'extrême pointe du dendrite, ce que l'auteur appelle le « corps tubulaire » constitué d'un matériel très opaque ; 3° la partie profonde montre deux centrosomes ou corps basaux ; du corps basal proximal part, en profondeur, un système de radicelles à striation transversale régulière.

La partie moyenne et l'extrémité distale du dendrite sont enfermées dans une gaine cuticulaire qui vient s'attacher à la base du poil, dans une formation particulière, d'aspect spongieux.

GUTHRIE (1966), étudiant les poils sensoriels de la tête chez *Schistocerca*, n'indique pas de structures fibrillaires dans la partie moyenne du dendrite, mais seulement, à l'extrémité distale, des microtubules à structure spiralée ; cette dernière zone est élargie, comme chez l'Abeille. L'auteur ne mentionne dans son schéma qu'une seule cellule annexe trichogène-tormogène. Le long du dendrite, il représente un tube à paroi hétérogène complexe mais ne le nomme pas gaine scolopoïde ou cuticulaire. La base de la soie s'attache à la cuticule par des travées multiples. Bien des points paraissent encore peu clairs dans les indications fournies par cet auteur.

Le récent travail de NICKLAUS *et al.* (1967) sur les poils des cerques de la blatte, fait mention, sous la cuticule de l'articulation de la soie, latéralement aux formations cellulaires de la sensille, d'un grand espace, extra-cellulaire selon les auteurs. Ce *Rezeptorlymphraum* est sans doute l'équivalent des vacuoles des cellules trichogène et tormogène décrites par d'autres chercheurs. NICKLAUS *et al.* retrouvent dans le dendrite distal une structure assez analogue à celle que décrit THURM ; la partie distale s'élargit en un « corps sensoriel » probablement équivalent du *corps tubulaire* de THURM. Ce corps sensoriel contient plus de mille microtubules, disposés parallèlement dans le sens de la longueur, à 400 angströms les uns des autres.

Enfin MOECK (1968) vient de publier une étude sur l'ultrastructure des sensilles de l'antenne d'un Coléoptère Scolytide, *Trypodendron lineatum* OLIVIER. Il reconnaît des *sensilla chaetica* dont l'organisation est, à quelques détails près, identique à celle précédemment décrite par THURM chez l'Abeille ; il indique notamment un dendrite distal à trois segments, avec un appareil radiculaire dans le segment profond, une structure ciliaire et ses neuf doublets de fibrilles dans le segment moyen et enfin, à la pointe, dans la gaine cuticulaire, une partie renflée, le corps tubulaire. Ce dernier présente une zone densément colorée au-dessous de laquelle on observe des microtubules.

L'étude des *sensilla chaetica* et *trichodea* au microscope optique avait déjà conduit à observer la parenté de structure de ces organes dans tous les groupes. L'observation en microscopie électronique renforce cette opinion : on aura remarqué, en effet, que dans les quatre travaux que nous venons de résumer, les auteurs ont mis en évidence, à l'extrémité du dentrite distal, au point où il s'attache à la base d'articulation de la soie, une zone renflée contenant des microtubules ; dans trois cas sur quatre la présence d'une gaine cuticulaire est expressément confirmée, de même que l'existence d'un segment ciliaire dans la zone moyenne du dendrite. Nous reviendrons plus loin sur ces structures ciliaires que l'on retrouve dans d'autres types d'organes sensoriels.

En tout cas, il apparaît d'ores et déjà possible de dresser un schéma général de l'ultrastructure de ces sensilles, schéma sans doute valable, dans ses grandes lignes, pour la plupart des groupes (fig. 1).

2. *Soies mixtes*

Les poils pluricellulaires du labelle et du tarse de diverses mouches ont servi de matériel tant pour des études de structure en microscopie optique que pour de nombreuses recherches de physiologie sensorielle (DETHIER, 1963). Il n'est donc pas étonnant que ce matériel ait été l'un des tous premiers utilisé dans les travaux au microscope électronique (DETHIER et WOLBARSTH, 1956). Plusieurs espèces ont fait, depuis quelques années, l'objet de travaux : *Phormia regina* MEIG. (DETHIER et WOLBARSTH, 1956 ; LARSEN, 1962 ; LARSEN et DETHIER, 1963 ; STÜRCKOW *et al.*, 1967.) *Calliphora erythrocephala* MEIG. et *C. vicina* R. D. (PETERS, 1961 ; PETERS et RICHTER, 1963 ; STURCKOW *et al.*, 1967), *Stomoxys calcitrans* L. (ADAMS, 1961, 1963 ; ADAMS *et al.*, 1965 ; STÜRCKOW *et al.*, 1967.)

Toutes ces recherches ont permis de confirmer, ici aussi, l'unité de structure de ces sensilles et d'en compléter le schéma dressé par DETHIER (1955) : le plus souvent ces poils ne sont pas lisses mais présentent des côtes longitudinales. La papille de la pointe, creusée de plusieurs sillons transversaux est percée d'un pore à l'extrémité du canal à paroi épaisse. On observe souvent sur la papille une gouttelette de substance visqueuse. Suivant les soies et suivant les espèces, il y a 3 à 5 dendrites dans le canal à paroi épaisse ; ils parviennent jusqu'à la pointe, au contact du pore ; un autre dendrite vient se terminer à la base du poil, sans entrer dans le canal. Une gaine avec des cloisons incomplètes, isolant chaque dendrite, prolonge le canal vers l'intérieur. La cavité à paroi

mince du poil, remplie d'un fluide particulier, paraît bien en continuité avec la cellule trichogène ou sa vacuole. L'articulation de la soie est assurée par une membrane mince, sorte de diaphragme fermant incomplètement le trou d'insertion sur la cuticule.

Chez *Stomoxys*, certains poils du tarse montrent une section de forme très particulière, d'aspect étoilé, à symétrie bilatérale.

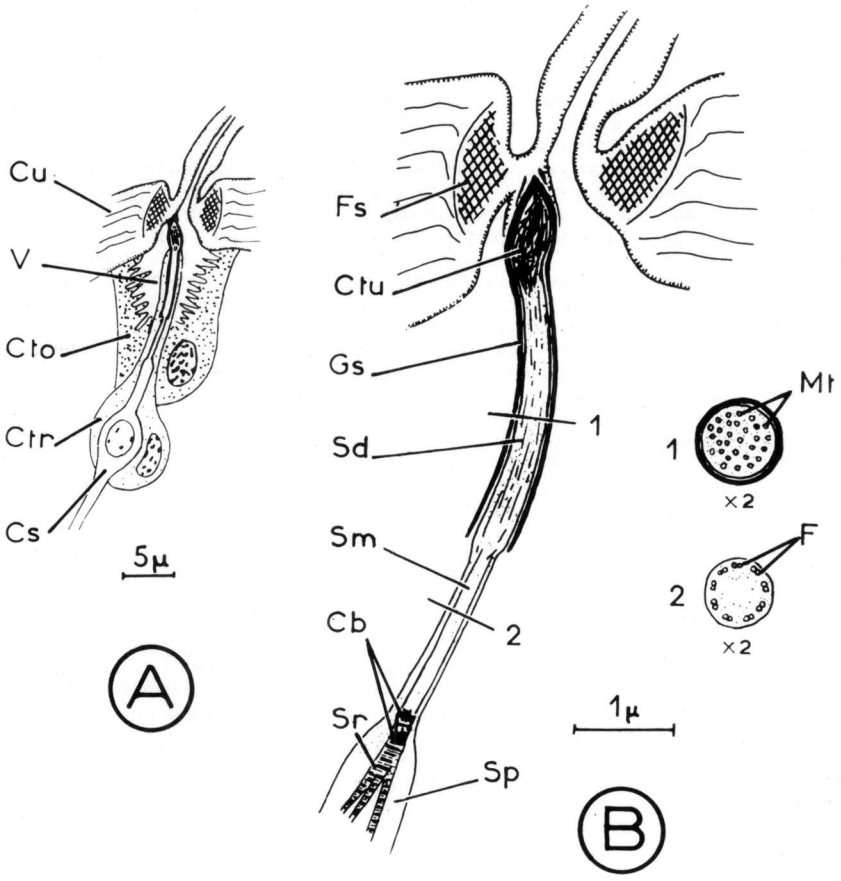


FIG. 1. — *Organisation d'un* sensillum chaeticum.
(Schéma établi d'après les données de plusieurs auteurs)

A. Vue d'ensemble. Cu : cuticule; V : vacuole ; Cto : cellule tormogène ; Ctr : cellule trichogène ; Cs : Cellule sensorielle.

B. Détails du dendrite distal. Fs : Formation spongieuse; Ctu : corps tubulaire; Gs : Gaine scolopoïde; Sd : Segment distal du dendrite; Sm : Segment moyen; Sp : Segment proximal; Cb : Corps basaux; Sr : Système radiculaire; Mt : Microtubules; F : Fibrilles.

Quelques précisions intéressantes ont pu être apportées par PETERS et RICHTER (1963) sur la genèse de diverses formations cuticulaires de la sensille : la gaine scolopoïde se forme d'abord, ouverte aux deux bouts, puis apparaît le canal à paroi épaisse qui la prolonge dans le poil et qui comprend une première couche de même nature que cette gaine et une seconde couche beaucoup plus épaisse.

Par ailleurs STÜRCKOW *et al.* (1967) viennent d'observer que la cavité à paroi mince ou canal externe peut s'ouvrir et se fermer à l'extrémité suivant les conditions hygrométriques ; c'est en s'ouvrant qu'elle rejette probablement la substance visqueuse remarquée sur la papille par plusieurs auteurs.

Il est à noter enfin, qu'en aucun cas, on n'a signalé ici de structure ciliaire.

II. — « SENSILLA BASICONICA » ET « STYLOCONICA »

A. — *Structure en microscopie optique*

Les sensilles basiconiques sont généralement des soies courtes, ou parfois très courtes, et de forme conique (« Pegs » des auteurs anglo-saxons). On n'observe généralement pas de base articulée, les structures mécanoréceptrices paraissent absentes. Il y a toujours un nombre plus ou moins important de cellules sensorielles (SNODGRASS, 1926). Les techniques de coloration externe, préconisées par SLIFER (1954, 1960), ont permis d'en distinguer deux types : les *sensilles basiconiques à paroi mince*, perméables aux colorants sur toute la surface de la soie et les *sensilles basiconiques à paroi épaisse* colorables seulement à l'extrémité de la soie.

Les sensilles styloconiques sont de petits « pegs » insérés sur une base cylindrique plus ou moins importante faisant nettement saillie à la surface de la cuticule.

B. — *Ultrastructure*

1. *Sensilles basiconiques à paroi mince* (« Thinwalled pegs »):

L'ultrastructure de ce type d'organes sensoriels a été reconnue, généralement sur les antennes, chez des insectes de divers ordres dont nous donnons la liste :

Orthoptères :

Acrididae :

Romalea microptera BEAUVOIS (SLIFER et *al.*, 1959).
Melanoplus differentialis differentialis THOMAS (SLIFER *et al.*, 1959).
Melanoplus mexicanus mexicanus SAUSSURE (SLIFER *et al.*, 1959).
Melanoplus differentialis UHLER (SLIFER *et* SEKHON, 1964 *b*).
Locusta migratoria L. (STEINBRECHT, 1968).

Coléoptères :

Silphidae :

Necrophorus vespilloïdes HERBST (SCHNEIDER et *al.*, 1966 ; ERNST, 1968).

Passalidae :

Popilius disjunctus III. (SLIFER et SEKHON, 1964 *c*).

Scolytidae :

Trypodendron lineatum OLIVIER (MOECK, 1968).

Hémiptères :

Lygaeidae :

Lygaeus kalmi L. (SLIFER et SEKHON, 1963).

Hyménoptères :

Abeille (SLIFER et SEKHON, 1961).

Diptères :

Calliphoridae :

Larves de *Calliphora erythrocephala* MEIG. (RICHTER, 1962).
Sarcophaga argyrostoma R. D. (SLIFER et SEKHON, 1964 *a*).

Culicidae :

Aedes aegypti L. (SLIFER et SEKHON, 1962).

Lépidoptères :

Sphingidae :

Larves de *Protoparce sexta* JOHN. (SCHOONHOVEN et DETHIER, 1966).

Saturnidae :

Larves de *Philosamia cynthia* DRUR. (SCHOONHOVEN et DETHIER, 1966).

Bombycidae :

Larves de *Bombyx sp.* (STEINBRECHT, 1965).

Lasiocampidae :

Larves de *Malacosoma americana* F. (SCHOONHOVEN et DETHIER, 1966).

Isoptères :

Reticulitermes flavipes KOLL. (PRESTAGE *et al.*, 1963).

Nous signalons d'abord les caractères communs à la plupart de ces types de sensilles :

La cuticule mince de la soie est percée de nombreux pores tronconiques s'évasant en profondeur ; le diamètre externe de ces pores varie de 0,02 à 0,01 μ suivant les espèces. La cavité contient de nombreux dendrites allongés parallèlement à l'axe du poil ; de minces filaments d'une centaine d'angströms partent perpendiculairement de ces dendrites et pénètrent dans les pores pour venir au contact du milieux extérieur ; on remarque souvent plusieurs filaments pénétrant dans un seul et même pore.

Les dendrites distaux présentent, dans presque tous les cas, la même organisation en trois segments que nous avons signalée sur les *sensilla trichodea*. Le segment médian, en particulier, a une structure ciliaire ; on y remarque les 9 doublets de fibrilles périphériques. En profondeur on observe des corps basaux et un système radiculaire strié. La partie distale contient des microtubules. Chez l'Abeille (SLIFER et SEKHON, 1961), les structures ciliaires ne sont pas décrites mais les auteurs estiment qu'elles sont probables.

Une gaine est généralement aisée à observer ; néanmoins, dans quelques cas, chez l'Abeille notamment, elle n'a pas été signalée. Chez les acridiens, la gaine se termine sur le côté de la base de la soie, par une plage circulaire perméable (SLIFER *et al.*, 1959). Chez *Lygaeus kalmi* enfin, il y a tout autour de la base une série de plages de ce type (jusqu'à 13), correspondant à autant de gaines cuticulaires (SLIFER et SEKHON, 1963) ; chaque gaine correspond à son tour à un groupe de dendrites.

Deux des types de sensilles décrits par MOECK (1968) sur l'antenne du Scolytide *Trypodendron lineatum* OLIVIER nous paraissent devoir être mentionnés ici : ce sont, selon sa nomenclature, les *sensilla trichodea* de type II et les *sensilla basiconica*. Dans les deux cas il y a deux neurones ; dans le premier type les dendrites distaux ne se ramifient qu'à l'extrémité de la soie percée de nombreux pores, alors que dans le second type la soie est percée de pores sur toute sa longueur et les dendrites se ramifient abondamment dès la base du poil.

Les sensilles à paroi mince reconnues chez *Aedes aegypti* L. (SLIFER et SEKHON, 1962) paraissent être assez particulières ; certaines d'entre elles, à pointe émoussée, n'ont de pores que près de l'extrémité de la soie ; elles rappelent donc les sensilles trichoïdes de type II de MOECK.

Mention à part doit être faite ici des organes supposés chimiorécepteurs de l'antenne des larves de *Calliphora* dont la structure, tout à fait spéciale, a fait l'objet d'une étude détaillée de RICHTER (1962) : l'épicuticule interne de la partie réceptrice (coupole) est percée de plus de 36 000 petits canaux d'un diamètre de 200 Å groupés par 3 à 5 ; chaque groupe de canaux débouche sur un pore de l'exocuticule externe (diamètre 300 Å). Les 21 cellules sensorielles sont réunies en 7 groupes de 3, en profondeur. Leurs dendrites distaux vont dans la coupole où ils ramifient et envoient de petits filaments très fins dans les canaux de l'épicuticule ; ces filaments viennent, par les pores, au contact de l'air. Aucune structure ciliaire n'est signalée.

Après SLIFER (1963) et SLIFER et SEKHON (1964 *c*) nous remarquerons que les sensilles basiconiques à parois minces paraissent bien communes, à quelques détails d'organisation près, à tous les groupes d'insectes. Leur perméabilité à certains colorants (SLIFER, 1954, 1960) s'explique aisément par la présence des très nombreux pores découverts dans les parois.

Nous avons tenté de dresser un schéma de l'ultrastructure de ce type de sensille (fig. 2).

2. *Sensilles basiconiques à paroi épaisse* (« Thickwalled pegs ») :

Elles ont été étudiées par SLIFER *et al.* (1957) sur les antennes de 3 acridiens : *Romalea microptera* BEAUVOIS ; *Melanoplus differentialis differentialis* THOMAS ; *Melanoplus mexicanus mexicanus* SAUSS. Au centre de la soie épaisse un tube cuticulaire parvient jusqu'à la pointe, ouverte ; il contient 4 à 6 dendrites qui montent jusqu'à l'ouverture. Ce tube se prolonge en profondeur par la gaine scolopoïde.

De telles soies ont été aussi sommairement étudiées chez le Collembole *Podura aquatica* L. (NOBLE-NESBIT, 1963).

Il semble bien que les papilles interpseudotrachéales du labelle de divers diptères (LARSEN,

1963 ; LARSEN et DETHIER, 1963 ; PETERS et RICHTER, 1963) soient aussi à classer dans cette catégorie ; LARSEN a observé notamment que le canal central est au milieu d'une grande vacuole, entourée par le cytoplasme de la cellule trichogène. Dans le canal, les dendrites, au nombre de 4, sont séparés par une cloison.

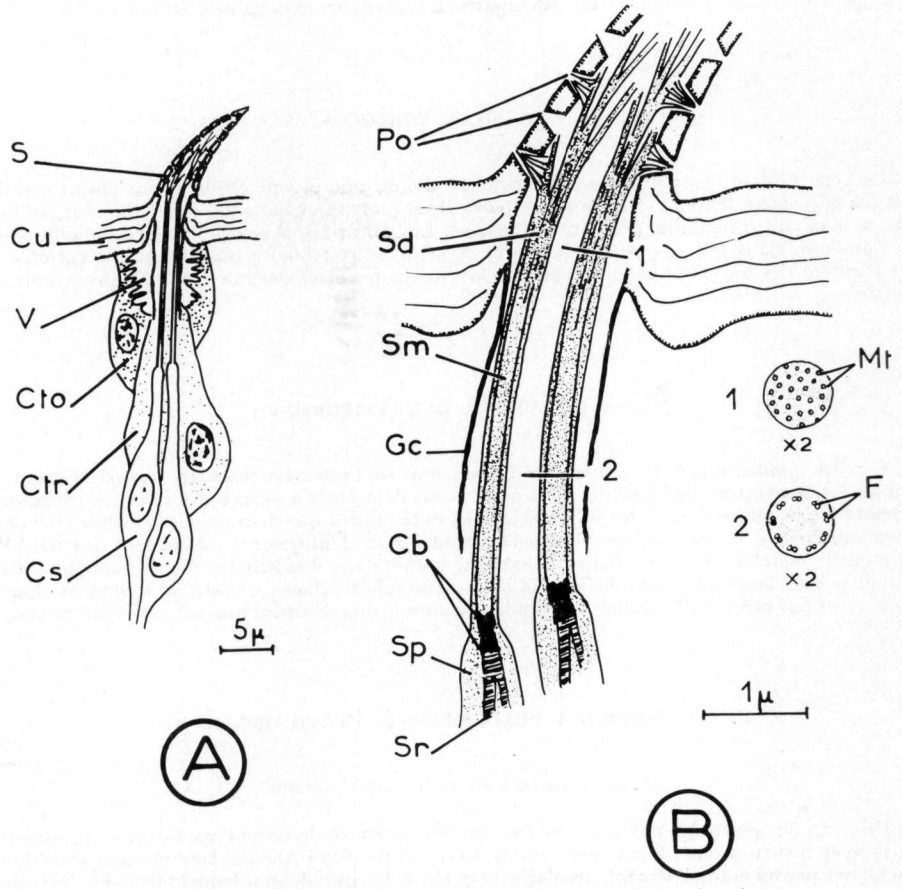


FIG. 2. — *Organisation d'un* sensillum basiconicum *à parois minces*
(Schéma établi d'après les données de plusieurs auteurs)

A. Vue d'ensemble. B. Détails des dendrites distaux (mêmes légendes que fig. 1. S : Soie; Po : Pores ; Gc : Gaine cuticulaire).

Enfin, les *sensilla trichodea* de type III que MOECK (1968) décrit sur l'antenne du Scolytide *Trypodendron lineatum* sont à mentionner ici. Elles possèdent 4 à 7 neurones dont les prolongements distaux pénètrent dans une gaine à l'intérieur d'une soie à paroi très épaisse. L'ultrastructure de la pointe, sans doute ouverte, n'a pu être étudiée.

Dans toutes ces recherches sur les sensilles basiconiques à parois épaisses, il est à remarquer que le travail de MOECK est le seul, jusqu'ici, à signaler des formations ciliaires.

3. *Sensilles de type intermédiaire :*

On a décrit sur l'antenne d'*Antheraea pernyi* et de *Bombyx* (ERNST et STEINBRECHT, 1968) de très longues soies (150-370 µ chez *Antheraea*, 45-110 µ chez *Bombyx*) à parois épaisses mais percées de pores où pénètrent des microtubules provenant des dendrites. Ces soies ne paraissent pas avoir de membrane d'articulation ; nous ne les avons donc pas mentionnées parmi les *S. trichodea*. Par la présence des pores, elles se distinguent des sensilles basiconiques à parois épaisses du type le plus courant.

4. *Sensilles styloconiques :*

Le travail de SCHOONHOVEN et DETHIER (1966), déjà signalé, comporte quelques brèves remarques sur l'ultrastructure des sensilles styloconiques des maxilles chez les chenilles de *Protoparce sexta* JOHN. et *Philosamia cynthia* DRUR. Les auteurs présentent des clichés de coupes avec 4 à 6 dendrites, dans des compartiments séparés, à l'intérieur de la gaine scolopoïde.

III. — « SENSILLA COELOCONICA »

Ce type de sensilles a été sommairement étudié au microscope électronique chez l'acridien *Romalea microptera* (SLIFER *et al.*, 1959) et chez *Apis* (SLIFER et SEKHON, 1961). Le cône, à l'intérieur de la cavité cuticulaire, présente des festons. Les dendrites ne se ramifient pas et sont enfermés dans une gaine qui va jusqu'à la pointe. STEINBRECHT (1968) a observé que la cuticule du cône contient des barres radiales creuses où pourraient pénétrer des microtubules provenant des dendrites.

IV. — « SENSILLA CAMPANIFORMIA »

A notre connaissance, le seul travail faisant état de l'ultrastructure des campaniformes est celui de THURM (1964) sur l'Abeille, dont nous avons déjà parlé à propos des sensilles trichoïdes : il apparaît que, mises à part les différenciations cuticulaires qui distinguent sensilles trichoïdes et campaniformes, l'organisation cellulaire est tout à fait identique : il y a un seul neurone avec son dendrite distal à structure ciliaire. L'extrême pointe de ce dendrite forme, ici aussi, un « corps tubulaire » plus large qui s'attache sous la cloche cuticulaire, dans un matériel spongieux dont la nature n'est pas précisée. La gaine scolopoïde présente le même aspect que sur la sensille trichoïde.

V. — « SENSILLA PLACODEA » (« PLATE ORGANS »)

A. — *Structure en microscopie optique*

Des sensilles placoïdes ont été signalées sur les antennes de nombreux insectes. La description type en a surtout été fournie par VOGEL (1921-1923), chez l'Abeille. Une sensille placoïde est caractérisée par un amincissement circulaire ou ovale de la cuticule sous lequel viennent s'attacher, en un même point d'après la plupart des auteurs, un nombre de dendrites assez élevé ; ces dendrites correspondent à autant de cellules sensorielles.

B. — *Ultrastructure*

Les recherches ont aussi porté principalement sur les sensilles des antennes de l'Abeille.

RICHARDS (1952) a donné de très nombreux détails sur les différenciation cuticulaires, leurs dimensions, leur structure et même l'orientation des micelles. La plaque centrale de la sensille, ovale (7,5 × 11 μ), épaisse de 0,50-1,25 μ en son centre, et de 1-2 μ à sa périphérie, est rattachée à la cuticule qui l'entoure par une mince membrane en forme de couronne (largeur : 0,6 μ environ) ; cette membrane extensible, épaisse de quelques centaines d'angströms est renforcée de 120 à 150 travées radiales atteignant 0,1 μ d'épaisseur.

Les travaux plus récents (KRAUSE, 1960 ; SLIFER et SEKHON, 1960-1961) n'ont guère modifié les données précédentes ; SLIFER et SEKHON ajoutent simplement qu'entre les barres radiales, la membrane mince est percée de rangées de pores de moins de 0,01 μ de diamètre.

RICHARDS n'a pas étudié l'organisation cellulaire ; les autres auteurs cités ont, en revanche, apporté nombre de précisions à ce point de vue : il y a 12 à 20 neurones ; les dendrites périphériques présentent une structure ciliaire avec deux couronnes concentriques de 9 fibrilles dans la partie moyenne et un système radiculaire en profondeur ; la partie distale possède des neurofilaments.

Les rapports de l'extrémité des dendrites avec la zone cuticulaire, n'apparaissent pas encore nettement ; on n'a pas observé de filaments nerveux au niveau des pores de la membrane mince. La cellule tormogène présente une grande vacuole bordée de « microvilli ».

KRAUSE, dans son mémoire, a également étudié la structure cuticulaire des « plate organs » de quelques autres hyménoptères (*Anthidium*, *Bombus* et *Vespa*) ; celle-ci est très proche de ce qui a été observé chez l'Abeille.

Enfin, KRAUSE a aussi étudié les sensilles placoïdes des antennes de deux coléoptères : chez *Phylloperta*, il y a de nombreux pores séparés par des renforcements grossiers sur toute la surface de la plaque ; chez *Amphimallus* les « plates » sont de deux types : l'un avec une large membrane périphérique s'enfonçant dans la profondeur de la cuticule et constituant une sorte de coupole ; l'autre dont la membrane reste plate, au niveau de la surface de la cuticule.

Il faut faire une place tout à fait à part aux sensilles décrites sous le nom de « plate organs » sur l'antenne de deux aphides : *Megoura viciae* BUCKTON et *Tuberolachnus salignus* GMEL. par SLIFER *et al.* (1964). Au niveau de la sensille, la cuticule s'amincit et ne comporte plus d'endocuticule ; l'épicuticule se détache en une sorte de coupole au-dessus de l'exocuticule, percée d'un gros orifice en son centre. De nombreux pores assez semblables à ceux décrits par RICHTER (1962) parsèment l'épicuticule. Chaque organe comprend seulement 2 ou 3 neurones dont le dendrite périphérique prend une structure ciliaire caractéristique dans sa partie moyenne et profonde ; le filament distal sort par le trou de l'exocuticule, se ramifie abondamment et envoie des filaments dans les pores. Sous l'exocuticule on remarque une grande vacuole bordée par les « microvilli » des cellules trichogène et tormogène.

VI. — ORGANES CHORDOTONAUX

A. — *Structure en microscopie optique*

Rappelons brièvement que ce type de sensilles est formé d'unités sensorielles ou scolopidies ; chaque scolopidie présente classiquement une ou plusieurs cellules nerveuses très allongées avec une cellule enveloppe et une cellule coiffe. Le dendrite distal s'insère dans un appareil très particulier, le corps *scolopal* ou *bâton scolopal*.

Les scolopidies à un seul neurone sont dites monodynales et les scolopidies à plusieurs neurones sont appelées isodynales ou hétérodynales suivant que les dendrites distaux sont de longueur égale ou inégale (DEBAUCHE, 1935).

Les organes chordotonaux sont toujours internes ; ils ne sont pas nécessairement en rapport avec des différenciations de la surface de la cuticule. On peut distinguer : 1° des organes chordotonaux simples possédant une seule ou un petit nombre de scolopidies ; 2° des organes chordotonaux complexes constitués d'un grand nombre de scolopidies ; c'est le cas, notamment, de l'organe de Johnston ou de l'organe tympanique.

B. — *Ultrastructure*

Une étude très approfondie a été faite sur l'organe tympanique du criquet (GRAY et PUMPHREY, 1958 ; GRAY, 1960). Ce travail a révélé une organisation d'une grande complexité : on observe 4 cellules annexes : 1° la cellule de Schwann, autour du corps cellulaire du neurone ; puis, successivement, vers la partie distale : 2° une cellule-gaine fibreuse ; 3° la cellule scolopidiale ; 4° la cellule-coiffe.

Le dendrite du neurone présente, ici encore, un rétrécissement à structure ciliaire dans sa partie moyenne, avec 9 paires de fibrilles ; en profondeur on observe des corps basaux et un complexe radiculaire strié. A l'extrémité distale, le cil se dilate d'abord puis se resserre en pénétrant dans la coiffe du corps scolopal ; la zone dilatée montre une structure fibreuse particulière.

Quand au tube scolopal, il apparaît, en microscopie électronique, comme constitué, en fait, d'au moins 6 bâtonnets séparés, entourés d'une mince couche de cytoplasme ; ces bâtonnets fusionnent près de la coiffe scolopidiale qui les recouvre comme un couvercle. Cette coiffe est extra-cellulaire.

UGA et KUWABARA (1965) ont étudié l'ultrastructure des scolopidies de l'organe de Johnston sur l'antenne de *Drosophila melanogaster* MEIG. (fig. 3). L'organisation qu'ils ont mise en évidence est assez proche de celle reconnue par GRAY sur l'organe tympanique de *Locusta*. Cependant, il y a 2 neurones par unité sensorielle : les 2 dendrites distaux sont de longueur inégale et ne se prolongent pas à la même hauteur dans la coiffe scolopidiale allongée (scolopidie hétérodynale) ; les auteurs signalent 3 cellules annexes.

Howse (1968) vient de publier les résultats d'une étude sur l'ultrastructure de divers organes chordotonaux du termite *Zootermopsis angusticollis* : sur le pédicelle de l'antenne chaque scolopidie à deux dendrites est hétérodynale ; par contre, sur l'organe de Johnston chaque unité contient trois dendrites égaux.

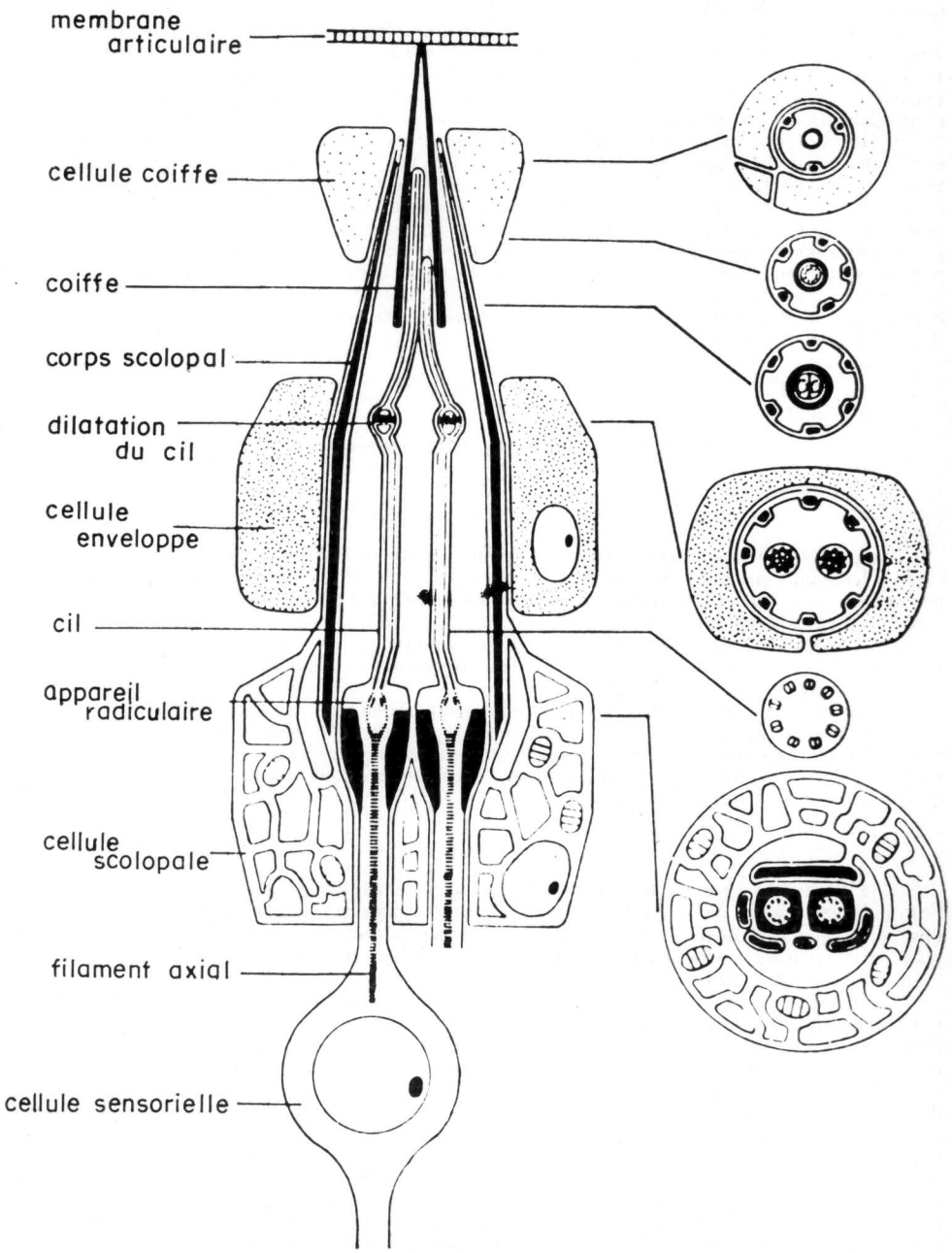


Fig. 3. — *Diagramme de l'organisation d'une scolopidie de l'organe de* Johnston *sur l'antenne de* Drosophila melanogaster (d'après Uga et Kuwabara, 1965)

Enfin, PINET (1968), étudiant au microscope électronique l'innervation des stylets maxillaires de *Rhodnius prolixus* STAL, a observé une structure qui représente très probablement une scolopidie hétérodynale à 3 dendrites.

VII. — RÉCEPTEURS DE TENSION

A. — *Structure en microscopie optique*

Un travail de OSBORNE et FINLAYSON (1962) distingue trois types de récepteurs de tension d'après leur organisation observée au microscope optique : 1er type : un neurone bipolaire, rattaché sur une partie de sa longueur le long d'un cordon conjonctif ; 2e type : un neurone bi ou multipolaire, rattaché à une fibre musculaire ; 3e type : un neurone enfermé dans un cordon conjonctif bordant une fibre musculaire.

B. — *Ultrastructure*

Deux des trois types que nous venons de signaler ont fait l'objet d'études au microscope électronique.

Le premier type a été étudié sur la blatte *Blaberus craniifer* BURM. par OSBORNE (1963). Les ramifications du dendrite, à l'intérieur de la gaine conjonctive, sont entourées de cellules de Schwann faisant de nombreux replis ; cette disposition rappelle tout à fait celle observée sur les dendrites des neurones multipolaires périphériques (EDWARDS, 1960). Ici, néanmoins, les terminaisons nerveuses, à leur extrémité, perdent leur gaine de Schwann ; on remarque, en outre, qu'elles sont très riches en mitochondries.

OSBORNE et FINLAYSON (1965) ont étudié des récepteurs du troisième type chez la chenille d'*Antheraea pernyi* GUÉR. Le neurone multipolaire, allongé, est enveloppé dans des replis des cellules de Schwann, comme dans le cas précédent ; ici aussi, l'extrémité des dendrites est dénudée. La gaine conjonctive est plaquée contre la cellule musculaire où elle s'attache par les digitations issues de faisceaux de fibres conjonctives.

VIII. — SENSILLA « INCERTAE SEDIS »

Certaines structures sensorielles sont difficiles à placer dans les catégories reconnue par SNODGRASS. C'est le cas des sensilles de l'organe hypopharyngien de *Blabera craniifer* BURM. (fig. 4) qui viennent de faire l'objet d'une très belle étude d'ultrastructure (MOULINS, 1967, 1968) : au niveau de la surface de la cuticule la seule différenciation de ces sensilles consiste en un pore de 0,1-0,2 μ de diamètre, placé au sommet d'un cône cuticulaire. Un long canalicule s'enfonce en profondeur depuis le pore. Chaque sensille comporte 5 cellules sensorielles ; leur dendrite périphérique comprend 3 segments de structure identique à celle qui a déjà été signalée précédemment; le segment moyen, notamment, a une structure ciliaire ; quant au segment distal il contient des microtubules ; ce segment pénètre dans le canalicule jusqu'à proximité du pore. L'auteur signale 1 cellule trichogène, 2 cellules tormogènes, des cellules gliales et des cellules épidermiques d'enveloppe. Il décrit en outre de très nombreux détails de structure sur lesquels il ne nous est pas possible de revenir ici.

REMARQUES GÉNÉRALES

De tous les travaux que nous venons de passer brièvement en revue, nous allons tenter de dégager quelques notions générales sur l'ultrastructure des sensilles et, secondairement, sur ses rapports avec leur rôle et leur mode de fonctionnement.

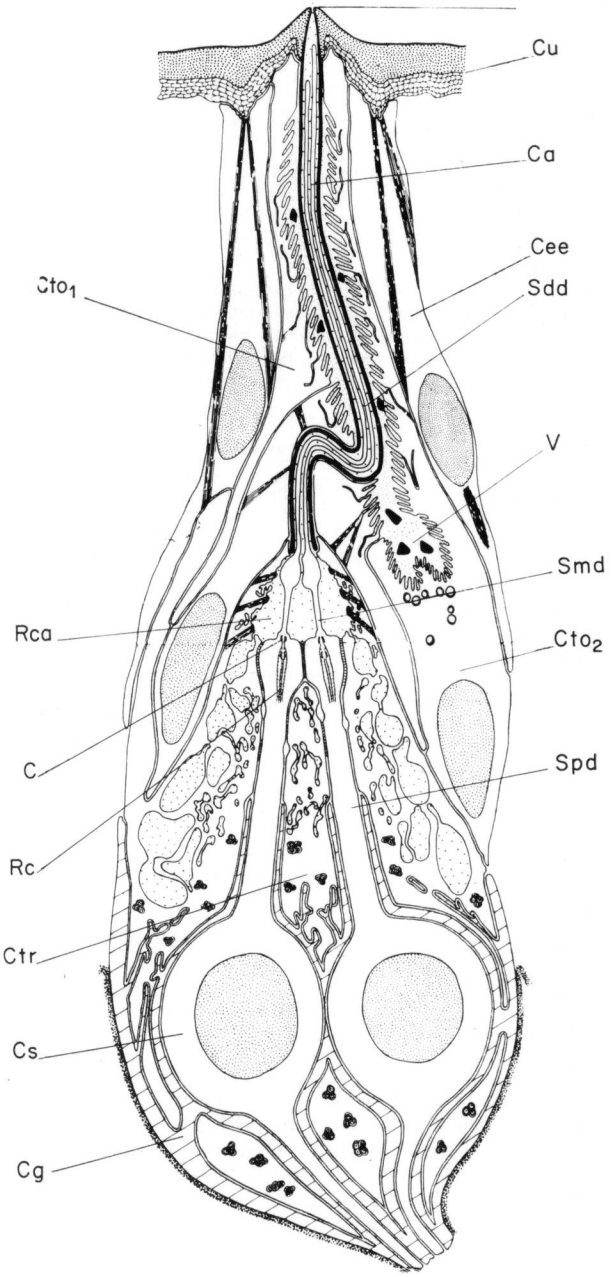


FIG. 4. — *Diagramme de l'organisation d'une sensille de l'organe hypopharyngien* de Blabera craniifer (d'après MOULINS, 1968)

Cto_1 : Cellule tormogène 1; Rca : Réceptacle du canalicule; C : corps basaux; Rc : Racines ciliaires; Ctr : Cellule trichogène; Cs : cellule sensorielle; Cg : cellule gliale; Po : Pore; Cu : Cuticule; Ca : canalicule; Cee : cellule épidermique d'enveloppe; Sdd : Segment distal du dendrite; V : Vacuole; Smd : Segment moyen du dendrite; Cto_2 : Cellule tormogène 2; Spd : Segment proximal du dendrite.

I. — ULTRASTRUCTURE

A. — *Différenciations cellulaires*

1. *Les structures ciliaires :*

Les recherches au microscope électronique dans les groupes d'animaux les plus divers ont conduit jusqu'ici les auteurs à reconnaître deux types de formations ciliaires (FAWCETT, 1961) :

a) *Des formations mobiles* présentant généralement un système de 9 paires de fibrilles disposées à la périphérie du cil et une paire de fibrilles centrales. En profondeur les fibrilles sont en relation avec un corpuscule basal à structure de centriole auquel se rattache un système radiculaire. Cette organisation se rencontre non seulement dans les cils des Infusoires ciliés ou des épithéliums de nombreux Métazoaires, mais aussi dans les flagelles des Flagellés ou des spermatozoïdes.

b) *Des formations non mobiles* dans lesquelles la paire de fibrilles centrale n'existe pas ; on observe, en outre, généralement, deux corpuscules basaux. Ces formations ont été identifiées dans les organes sensoriels et dans de nombreux tissus de Métazoaires (CURRIE et WHEATLEY, 1966).

Il y a peu de temps encore (IMMS, 1957), on s'accordait à penser que les Insectes ne possédaient pas de structures ciliaires autres que celles des flagelles des gamètes mâles. Les travaux de GRAY et PUMPHREY (1958), puis de GRAY (1960) devaient amener leurs auteurs à remettre en cause cette opinion. Les nombreuses recherches ultérieures sur les sensilles ont confirmé leur point de vue : il faut maintenant considérer que les structures ciliaires non mobiles sont également présentes chez les Insectes. Nous avons vu qu'elles ont été signalées à maintes reprises dans le segment moyen du dendrite distal sur divers types de sensilles. Si l'on s'en réfère à un récent travail d'ACTON (1966) il semblerait même que des cils existent ailleurs que dans les cellules sensorielles.

De la revue que nous avons faite dans le précédent chapitre, il apparaît qu'on peut classer les différents types de sensilles en deux groupes : celles qui possèdent des structures ciliaires et celles qui n'en possèdent pas.

a) *Organes à structures ciliaires :* certaines sensilles trichoïdes simples ; sensilles campaniformes ; sensilles basiconiques ; sensilles placoïdes ; organes scolopidiaux.

b) *Organes sans structures ciliaires* reconnues : sensilles trichoïdes mixtes des Diptères ; récepteurs de tension.

Il est à remarquer que chez les Vertébrés on peut être amené à faire la même distinction, soit :

a) *Des organes sensoriels à structures ciliaires* : muqueuses olfactives (BANNISTER, 1965 ; REESE, 1965 ; ANDRES, 1966 ; GRAZIADEI, 1966 ; THORNHILL, 1967) ; organes de Corti (ENGSTRÖM et WERSÄLL, 1958) ; bâtonnets et cônes de la rétine (DE ROBERTIS, 1956).

b) *Des organes sensoriels sans structure ciliaire :* fuseaux neuromusculaires (KATZ, 1961) ; corpuscules de Pacini (PEASE et QUILLIAM, 1957).

Il faut enfin mentionner que plusieurs travaux ont mis également en évidence une ultrastructure ciliaire dans les organes sensoriels de divers Arthropodes, entre autres : sur les organes chordotonaux du Crabe enragé (WHITEAR, 1962) ; sur les poils sensoriels de l'antennule de la Langouste (LAVERACK et ARDILL, 1965) ; sur les organes temporaux du Myriapode *Glomeris* (BEDINI et MIROLLI, 1967).

2. *Autres structures cellulaires :*

L'observation au microscope electronique a bien souvent permis de préciser le nombre de cellules sensorielles présentes dans une sensille.

En bordure des vacuoles des cellules-annexes, des microvillosités ont pu fréquemment être observées.

On a remarqué que, sur les récepteurs de tension, les extrémités des dendrites, dans les parties dépourvues de gaine de Schwann, contenaient d'abondantes mitochondries.

Bien d'autres détails ont pu être aussi mis en lumière, dont l'énumération ne présenterait ici que peu d'intérêt.

B. — *Différenciations cuticulaires*

Des points importants susceptibles d'aider à comprendre le rôle et le fonctionnement des organes sensoriels ont pu être établis par les recherches d'ultrastructure ; rappelons, notamment : la présence de multiples pores dans les parois minces de certaines sensilles, pores dans lesquels pénètrent des tubules issus des dendrites ; l'existence d'une double ouverture à l'extrémité des soies chimioréceptrices du labelle des mouches ; etc.

II. — ULTRASTRUCTURE ET RÔLE

Quelles indications les structures découvertes par le microscope électronique peuvent-elles nous donner sur le rôle éventuel des sensilles étudiées ?

La seule présence d'une structure ciliaire n'est pas une indication suffisante ; nous avons vu, en effet, que les organites ciliaires ne sont pas propres à un type d'organe sensoriel particulier : par exemple, des sensilles trichoïdes, mécanorécepteurs incontestables (THURM, 1964, 1965 *a-b*) et des sensilles basiconiques à parois minces, chimiorécepteurs certains (SLIFER et SEKHON, 1964 *b*) ont l'une et l'autre des structures ciliaires. Inversement, des organes de même fonction peuvent en posséder ou un être dépourvus : c'est le cas, par exemple des photorécepteurs d'une hydroméduse, *Polyorchis penicillatus* (EAKIN et WESTFALL, 1962) qui ont des cils, alors que les ommatidies des yeux composés des insectes n'en recèlent pas (FERNANDEZ-MORAN, 1958).

Chez les mammifères, on sait qu'au cours de l'ontogenèse de l'œil ce sont des structures ciliaires qui donnent naissance aux cônes et aux bâtonnets de la rétine (DE ROBERTIS, 1956). Ce fait incite SLIFER et SEKHON (1964 *b*) à émettre l'hypothèse que, chez les insectes, au moment de la mue, les zones ciliaires des sensilles ne sont peut-être pas rejetées et régénèrent ensuite les parties distales. Il y a là un point que les études ultérieures pourront peut-être vérifier.

Si la présence de cils ne peut permettre de rien affirmer quant à la fonction, les différenciations décelées dans l'ultrastructure cuticulaire peuvent être de bien meilleurs indices. Ainsi, SCHNEIDER et STEINBRECHT (1968) présentent un tableau de divers types de sensilles (*S. trichodea, S. basicona, S. placodea*) qui ont fait l'objet de recherches d'électrophysiologie apportant la preuve de leur rôle olfactif et qui ont été aussi étudiés au microscope électronique. Dans tous les cas cités, l'étude d'ultrastructure a montré la présence, dans les formations cuticulaires, de pores où pénètrent des tubules provenant des dendrites.

Nous envisagerons, enfin, le cas des sensilles placoïdes des abeilles. SLIFER et SEKHON (1960, 1961), après en avoir fait l'étude au microscope électronique, furent frappés de certaines analogies d'ensemble avec l'organe tympanique du criquet dont l'ultrastructure venait d'être décrite peu avant par GRAY (1960). Ils émirent l'hypothèse que ces sensilles placoïdes pourraient bien être des récepteurs acoustiques, car leur plaque cuticulaire paraissait mobile sur la membrane mince périphérique ; il semblait dès lors logique d'attribuer à ces organes une sensibilité vibratoire. Depuis, les travaux de LACHER et SCHNEIDER (1963), de LACHER (1964) de BŒCKH *et al.* (1965) ont établi, grâce à l'électrophysiologie, une sensibilité chimique incontestable, confirmant l'opinion primitive de Von FRISCH (1921). Il y a donc lieu d'être très prudent quant à l'interprétation de certaines analogies sommaires d'organisation générale ; elles ne signifient pas nécessairement une analogie de fonction.

III. — ULTRASTRUCTURE ET MODE DE FONCTIONNEMENT

Nous rappelerons ici quelques tentatives d'utilisation des résultats obtenus par les études d'ultrastructure en vue d'expliquer le fonctionnement des organes sensoriels.

Les données numériques fournies par RICHARDS (1952) pour l'abeille, par SLIFER *et al.* (1959) pour divers acridiens et par STEINBRECHT (1965) pour le ver à soie ont été reprises par BŒCKH *et al.* (1965) dans leurs essais de détermination des seuils de sensibilité pour certaines catégories de sensilles ; ces derniers auteurs postulent que les pores des sensilles étudiées sont entièrement occupés par des filaments nerveux venant des dendrites ; dans ce cas, la surface réceptrice moyenne d'une cellule sensorielle est donnée par le rapport $\frac{K}{H}$ où K représente la surface totale des pores de la cuticule et H le nombre de neurones de la sensille.

GUTHRIE (1966) s'est intéressé aux structures ultramicroscopiques susceptibles d'expliquer

la transduction (1), c'est-à-dire la transformation de l'information (mécanique, chimique, etc.) reçue par le récepteur, en potentiel d'action. Il a envisagé le cas des mécanorécepteurs. Pour lui, il y a 3 types possibles :

a) *Les récepteurs de tension :* la région active de transduction serait l'extrémité dénudée des dendrites, riche en mitochondries (OSBORNE, 1963 ; OSBORNE et FINLAYSON, 1965) ; chez les Vertébrés, les fuseaux neuromusculaires (KATZ, 1961) et les corpuscules de Pacini (PEASE et QUILLIAM, 1957) fonctionneraient de la même manière.

b) *Les organes scolopidiaux tympaniques* étudiés par GRAY (1960) : les structures de transduction seraient peut être les stries du système radiculaire.

c) *Diverses sortes de* soies *et les* sensilles campaniformes (THURM, 1964-1965 *a*, GUTHRIE, 1966) : les microtubules spiralées mises en évidence dans le corps tubulaire de la partie distale du dendrite, au contact des processus cuticulaires, seraient à l'origine de la transduction. Tout récemment NICKLAUS *et al.* (1967) viennent de suggérer le même mécanisme à propos des poils sensoriels de la blatte : lors de l'excitation du poil, la déformation des tubules provoquerait des variations des charges électriques propres à mettre en œuvre le potentiel d'action.

STÜRCKOW (1964) ; WOLBARSHT (1965) et REESE (1967) tentent d'expliquer les phénomènes électriques constatés et étudiés avant eux par divers auteurs sur les chimiorécepteurs labellaires et tarsaux des mouches ; ces tentatives tiennent évidemment compte des observations d'ultrastructure, notamment pour le calcul de la résistance à l'intérieur des cavités des soies. Pour STÜRCKOW (1967) et STÜRCKOW *et al.* (1967), la substance visqueuse observée sur la papille semble jouer un rôle important.

CONCLUSIONS

Nombre de travaux ont été publiés depuis dix ans sur l'ultrastructure des organes sensoriels des Insectes. Les antennes ont, le plus souvent, servi de matériel de recherches (SCHNEIDER, 1964), et de nombreux détails ont été découverts ou précisés. A la lumière de nos connaissances nouvelles, il apparaît déjà possible de tenter de dresser un schéma général de l'ultrastructure pour la plupart des types de sensilles (fig. 1, 2, 3, et 4).

Une similitude d'organisation avec les autres groupes du règne animal est apparue, similitude bien plus étroite que n'aurait pu le laisser prévoir l'observation en microscopie optique.

Nous avons eu l'occasion de signaler que certaines sensilles appartenant à des catégories différentes pouvaient présenter des analogies importantes d'ultrastructure et de rôle. La classification traditionnelle de SNODGRASS, basée sur la morphologie en microscopie optique, devrait donc être progressivement abandonnée pour faire place à une classification qui tienne surtout compte des données ultrastructurales en rapport avec la fonction.

Reçu pour publication en juin 1969.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ACTON A. B., 1966. An unusual ciliumlike process. *J. cell. Biol.*, **29**, 366-369.

ADAMS J. R., 1961. The location and histology of the contact chemoreceptors of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* L. *Doctoral Dissert. Rutgers Univ., New Brunswick, N. J.*

ADAMS J. R., 1963. The fine structure of insect contact chemoreceptors. 16 th. *Internation. Congr. Zool., Washington*, **3**, 93-95.

ADAMS J. R. HOLBERT P. E., FORGASH A. J., 1965. Electron microscopy of the contact chemoreceptors of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **58**, 909-917.

ANDRES K. H., 1966. Der Feinbau der Regio olfactoria von Makrosmatikern. *Z. Zellforsch. mikr. Anat.*, **69**, 140-154.

(1) Rappelons qu'en génétique le terme de transduction est également employé, avec un tout autre sens : il désigne le transfert, par l'intermédiaire d'un virus, d'une ou plusieurs unités génétiques d'une bactérie sur une autre.

BANNISTER L. H., 1965. The fine structure of the olfactory surface of teleostean fishes. *Quarl. J. micr. Sci.*, **106**, 333-342.

BEDINI C., MIROLLI M., 1967. Sensory cilia in the temporal organs of *Glomeris* (Myriapoda, Diplopoda). *Naturwissenschaften*, **54**, 373-374.

BOECKH J., KAISLING K. E., SCHNEIDER D., 1965. Insect olfactory receptors. *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.*, **30**, 263-280.

CURRIE A. R., WHEATLEY D. N., 1966. Cilia of a distinctive structure (9 + o) in endocrine and other tissues. *Postgr. med. J.*, **42**, 403-408.

DEBAUCHE H., 1935. Recherches sur les organes sensoriels antennaires de *Hydropsyche longipennis*. *La Cellule*, **44**, 43-83.

DE ROBERTIS E., 1956. Morphogenesis in the retinal rods. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **2**, 209-218.

DETHIER V. G., 1955. The physiology and histology of the contact chemoreceptors of the blowfly. *Quart. Rev. Biol.*, **30**, 348-371.

DETHIER V. G., 1963. *The Physiology of Insect Senses, London, Methuen et Co.*, 266 pp.

DETHIER V. G., WOLBARSTH M. L., 1956. The electron microscopy of chemosensory hairs. *Experientia*, **12**, 335-337.

EAKIN R. M., WESTFALL J., 1962. Fine structure of photoreceptors in the hydromedusan, *Polyorchis penicillatus*. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **481**, 826-833.

EDWARDS G. A., 1960. Insect micromorphology. *Annu. Rev. Entomol.*, **5**, 17-34.

ENSGTROM H., WERSALL J., 1958. The ultrastructure organization of the organ of Corti of the vestibular sensory epithelia. *Exper. Cell Res.* **5**, 460-492.

ERNST K. D., 1968. Article en préparation. Cité par SCHNEIDER et STEINBRECHT, 1968.

ERNST K. D., STEINBRECHT R. A., 1968. Observations non publiées in : SCHNEIDER et STEINBRECHT, 1968.

FAWCETT D. W., 1961. Cilia and Flagella, in : BRACHET et MIRSKY : The Cell, **2**, 217-292.

FERNANDEZ-MORAN H., 1958. Fine structure of the light receptors in the compound eyes of insects. *Exper. Cell Res.*, **5**, 586-644.

FRISCH K. von, 1921. Über den Sitz des Geruchsinnes bei Insekten. *Zool. Jb., Abt., allg. Zool.* **38**, 449-516.

GRAY E. G., 1960. The fine structure of the insect ear. *Philos. Trans. r. Soc. London*, B, 243, 75-93.

GRAY E. G., PUMPHREY R. J., 1958. Ultrastructure of the insect ear. *Nature*, **181**, 618.

GRAZIADEI P., 1966. Electron microscopic observations of the olfactory mucosa of the mole. *J. Zool.*, **149**, 89-94.

GUTHRIE D. M., 1966. The function and fine structure of the cephalic airflow receptor in *Schistocerca gregaria*. *J. Cell Sci.*, **1**, 463-470.

HOWSE P. E., 1968. The fine structure and functional organization of chordotonal organs. in : Invertebrate Receptors, Acamedic Press, London, New York, 167-198.

IMMS A. D., 1957. A general textbook of Entomology. Methuen & C°, Londres 886 p.

KATZ B., 1961. The termination of the afferent nerve fibre in the muscle spindle of the frog. *Philos. Trans. r. Soc. London*, B, **243**, 221-240.

KRAUSE B., 1960. Electronenmikroskopische Untersuchungen an den Plattensensillen des Insektenfühlers. *Zool. Beitr.*, **6**, 161-205.

LACHER V., 1964. Elektrophysiologische Untersuchungen an einzelnen Rezeptoren für Geruch, Kohlendioxyd, Lufteuchtigkeitung, Temperatur auf den Antennen der Arbeitsbiene und der Drohne (*Apis mellifica* L.). *Z. vergl. Physiol.*, **48**, 587-623.

LACHER V., SCHNEIDER D., 1963. Elektrophysiologischer Nachweis der Riechfunktion von Porenplatten (*Sensilla placodea*) auf den Antennen der Drohne und Arbeitsbiene (*Apis mellifica L.*). *Z. vergl Physiol.*, **47**, 274-278.

LARSEN J. R., 1962. The fine structure of the labellar chemosensory hairs of the blowfly, *Phomia regina* MEIGEN. *J. insect Physiol.*, **8**, 683-91.

LARSEN J. R., 1963. Fine structure of the interpseudotracheal papillae of the blowfly. *Science*, **139**, 347.

LARSEN J. R., DETHIER V. G., 1963. The fine structure of the labellar and antennal chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*. *XVI th Inter. Congr. Zool.*, Washington, **3**, 81-83.

LAVERACK M. S., ARDILL D. J., 1965. The innervation of the aesthetasc hairs of *Panulirus argus*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **106**, 45-60.

LE BERRE J. R., SINOIR Y., BOULAY C., 1967. Étude de l'équipement sensoriel de l'article distal des palpes chez la larve de *Locusta migratoria migratorioides* (R & F). *C. R. Acad. Sci.*, D, **265**, 1717-1720.

MOECK H. A., 1968. Electron microscopic studies of antennal sensilla in the ambrosia beetle, *Trypodendron lineatum* OLIVIER (*Scolytidae*). *Canad. J. Zool.* **46**, 521-556.

MOULINS M., 1967. Les cellules sensorielles de l'organe hypopharyngien de *Blabera craniifer* BURM. (*Insecta, Dictyoptera*). Étude du segment ciliaire et des structures associées. *C. R. Acad. Sci.*, **265**, D, 44-47.

MOULINS M., 1968. Les sensilles de l'organe hypopharyngien de *Blabera craniifer* BURM. (*Insecta, Dictyoptera*). *J. Ultrastructure Res.*, **21**, 474-513.

NICKLAUS R., LUNDQUIST P. G., WERSALL J., 1967. Elektronmikroskopie am sensorischen Apparat der Fadenhaare auf den Cerci der Schabe *Periplaneta americana*. *Z. vergl. Physiol.*, **56**, 412-415.

NOBLE-NESBITT J., 1963. The fully formed intermoult cuticle and associated structures of *Podura aquatica* (Collembola). *Quart. J. micr. Sci.*, **104**, 253-270.

OSBORNE M. P., 1963. An electron microscope study of an abdominal stretch receptor of the cockroach. *J. Insect Physiol.*, **9**, 237-245.

OSBORNE M. P., FINLAYSON L. H., 1962. The structure and topography of stretch receptors in representatives of seven orders of insects. *Quart. J. micr. Sci.*, **103**, 227-242.

OSBORNE M. P., FINLAYSON L. H., 1965. An electron microscope study of the strech receptor of *Antheraea pernyi* (Lepidoptera, Saturnidae). *J. Insect Physiol.*, **11**, 703-710.

PEASE D. C., QUILLIAM R. A., 1957. Electron microscopy of the pacinian corpuscules. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **3**, 331.

PETERS W., 1961. Morphologishe Untersuchungen an chemischen Sinnesorganen der Schmeissfliege *Calliphora erythrocephala* Meig. (Diptera). *Verh. XI Intern. Kongr. Entomol, Wien.*, **1**, 407-409.

PETERS W., RICHTERS S., 1963. Morphological investigations on the sense organs of the labella of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* MEIG. *XVI th Intern. Congr. Zool. Washington*, **3**, 89-92.

PINET J. M., 1968. Données ultrastructurales sur l'innervation sensorielle des stylets maxillaires de *Rhodnius prolixus* (Heteroptera Reduviidae). *C. R. Acad. Sci.*, **267** *D*, 634-637.

PRESTAGE J. J., SLIFER E. H., STEPHENS L. B., 1963. Thin walled sensory pegs on the antenna of the termite worker, *Reticulitermes flavipes*. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **56**, 874-878.

REES C. J. C., 1967. Transmission of receptor potential in Dipteran chemoreceptors. *Nature*, **215**, 301-302.

REESE T. S., 1965. Olfactory cilia in the frog. *J. Cell Biol.*, **25**, 209-230.

RICHARDS A. C., 1952. Studies on arthropod cuticle. VIII The antennal cuticle of honey bees, with particular reference to the sense plates. *Biol. Bull.*, **103**, 201-225.

RICHTER S., 1962. Ummittelbarer Kontakt der Sinnesezellen cuticulares Sinnesorgane mit der Aussenwelt. *Z. Morphol. Okol. Tiere*, **52**, 171-196.

SCHENK O., 1903. Die antennalen Hautsinnesorgane einiger Lepidopteren und Hymenopteren mit besonderer Berücksichtigung der sexuellen Unterschiede. *Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. Tiere*, **17**, 573-618.

SCHNEIDER D., 1964. Insect antennae. *Annu. Rev. Entomol.*, **9**, 103-122.

SCHNEIDER D., STEINBRECHT R. A., 1968. Checklist of insect olfactory sensilla. in : Invertebrate Receptors, Academic Press, Londres, New York, 279-297.

SCHNEIDER D., STEINBRECHT R. A., ERNST K., 1996. Antennales Riechhaar des Aaskäfers. *Naturw. Rdsch., Stugtt.*, **19**, 3, 1 u. III.

SCHOONHOVEN L. M., DETHIER V. G., 1966. Sensory aspects of host-plant discrimination by Lepidopterous larvae. *Arch. néerl. Zool.*, **16**, 497-530.

SCHWARTZKOPFF J., 1964. Mechanoreception, in ROCKSTEIN M., *The Physiology of Insecta. N. Y., London, Acad. Press.*, **1**, 509-561.

SINOIR Y., BOULAY C., LE BERRE J. R., 1968. Étude de l'équipement sensoriel du labre chez la larve de *Locusta migratoria migratorioides* (R. et F.). *C. R. Acad. Sci.*, **266** D, 1505-1507.

SLIFER E. H., 1954. The permeability of the sensory pegs on the antennae of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae). *Biol. Bull.*, **106**, 122-128.

SLIFER E. H., 1960. A rapid and sensitive method for identifying permeable areas in the body wall of insects. *Entomol. News*, **71**, 179-182.

SLIFER E. H., 1961. The fine structure of insect sense organs. *Internation. Rev. Cytol.*, **2**, 125-159.

SLIFER E. H., 1963. Fine structure of insect olfactory receptors. *16 th internation Congr. Zool., Washington*, **3**, 79-80.

SLIFER E. H., 1966. Sense organs on the antennal flagellum of a walkingstick *Carausius morosus* Brünner (Phasmidae). *J. Morphol.*, **120**, 189-201.

SLIFER E. H., PRESTAGE J. E., BEAMS H. W., 1957. The fine structure of the long basiconic sensory pegs of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae) with special reference to these on the antenna. *J. Morphol.*, **101**, 359-396.

SLIFER E. H., PRESTAGE J. E., BEAMS H. W., 1959. The chemoreceptors and other sense organs on the antennal flagellum of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae). *J. Morphol.*, **105**, 145-191.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1960. The fine structure of the plate organs on the antenna of the honey bee, *Apis mellifera* LINNÉ. *Exper. Cell Res.*, **19**, 410-414,

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1961. Fine structure of the sense organs on the antennal flagellum of the honey bee, *Apis mellifera* LINNÉ. *J. Morphol.*, **109**, 351-381.

SLIFER E. H. SEKHON S. S., 1962. The fine structure of the sense organ on the antennal flagellum of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* LINNÉ. *J. Morphol.*, **111**, 49-57.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1963. Sense organs on the antennal flagellum of the small milkweed bug, *Lygaeus kalmi* Stål (Hemiptera, Lygaeidae). *J. Morphol.*, **112**, 165-193.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1964-*a*. Fine structure of the sense organs on the antenna flagellum of a flesh fly, *Sarcophaga argyrostoma* R. D. (Diptera, Sarcophagidae). *J. Morphol*, **114**, 185-193.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1964.b The dendrites of the thin-walled olfactory pegs of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae). *J. Morphol.*, **114**, 393-409.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., 1964 *c*. Fine structure of the thin-walled sensory pegs on the antenna of a beetle, *Popilius disjunctus* (Coleoptera-Passalidae). *Ann. Entomol, Soc. Amer.*, **57**, 541-548.

SLIFER E. H., SEKHON S. S., LEES A .D., 1964. The sense organs on the antennal flagellum of aphids (Homoptera), with special reference to the plate organs. *Quart. J. micr. Sci.*, **105**, 21-29.

SNODGRASS R. E., 1926. The morphology of insect sense organs and the sensory nervous system. *Smithson. misc. Collect.*, **99**, 80 pp.

STEINBRECHT. 1965. Observations non publiées in BOECK et *al.* 1965.

STEINBRECHT 1968. Observations non publiées in SCHNEIDER et STEINBRECHT, 1968.

STÜRCKOW B., 1961. Histologishe Untersuchungen am labellaren chemorezeptor von *Calliphora* und *Phormia*. *Verh. XI Intern. Kongr. Entomol. Wien*, **1**, 410-411.

STÜRCKOW B., 1964. Some common features of three types of insect sensilla. *Experientia*, **20**, 509-511.

STÜRCKOW B., 1967. Occurence of a viscous substance at the tip of the labellar hair of the blowfly. *Olfaction and taste II. Proc. 2 nd internation. Symp., Tokyo*, 707-720.

STÜRCKOW B., HOLBERT P. E., ADAMS J. R., 1967. Fine structure of the tip of chemosensitive hairs in two blowflies and the stable fly. *Experientia*, **23**, 780-782.

THORNHILL R. A., 1967. The ultrastructure of the olfactory epithelium of the Lamprey *Lampetra fluviatilis*. *J. Cell Sci.*, **2**, 591-602.

THURM U., 1964. Mechanoreceptors in the cuticle of the honey bee : fine structure and stimulus mechanism. *Science*, **145**, 1063-1065.

THURM U., 1965 *a*. An insect mechanoreceptor. I. Fine structure and adequate stimulus. *Cold Spring Harbor Symp. quant Biol.*, **30**, 75-82.

THURM U., 1965 *b*. An insect mechanoreceptor. II. Receptor potentials, *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.*, **30**, 83-94.

UGA S., KUWABARA M., 1965. On the fine structure of the chordotonal sensillum in antenna of *Drosophila melanogaster*. *J. Electronmicr.*, **14**, 173-181.

VOGEL R., 1921. Zur Kenntnis der Geruchsorgane der Wespen und Bienen. *Zool. Anz.*, **53**, 20-28.

VOGEL R., 1923. Zur Kenntnis des feineren Baues der Geruchs-organe der Wespen und Bienen. *Z. Wissensch. Zool*, **120**, 281-324.

WHITEAR M., 1962. The fine structure of crustacean proprioceptors. I. the chordotonal organs in the legs of the shore crabe, *Carcinus moenas*. *Philos. Trans. r. Soc. London*, B. **245**, 291-324.

WOLBARSHT M. L., 1965. Receptor sites in insect chemoreceptors. *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.*, **30**, 281-288.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 357-369.

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

LA JAUNISSE APICALE DU POIS : CONNAISSANCES ACTUELLES SUR L'ÉCOLOGIE DE CETTE MALADIE TRANSMISE PAR APHIDES

A. FRAVAL

Station centrale de Zoologie,
Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles
Institut national de la Recherche agronomique

La Jaunisse apicale du Pois, maladie des légumineuses de découverte assez récente et d'importance économique croissante, suscite à l'heure actuelle un grand nombre de travaux de recherche ; nos travaux portant sur la lutte génétique, l'analyse de l'agent pathogène et l'étude de la transmission aphidienne (1), il nous a paru utile de rassembler les données déjà publiées au sujet de cette maladie.

Celles-ci sont présentées, regroupées en chapitres, dans l'ordre suivant : *Historique, Répartition géographique* ; *Importance économique* ; *Nomenclature* ; *Symptômes* ; *Mode de transmission* ; *Gamme d'hôtes végétaux* ; *Épidémiologie* ; *Possibilités de lutte*. La *conclusion* énumère les lacunes dans notre connaissance actuelle de cette maladie et insiste sur l'intérêt et la complexité de l'étude de l'écologie de la transmission aphidienne de la J.A.P.

Quatre maladies de nature probablement virale, aux symptômes analogues, sont rapidement décrites en *annexe*.

HISTORIQUE ET RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

La première mention de la Jaunisse apicale du Pois est due très vraisemblablement à BONNING, qui, dès 1927, décrit cette maladie sur Fève en *Allemagne* ; QUANTZ et VOLK (1954) redécouvrent la maladie en *Allemagne* et établissent son existence en *Hollande*, laquelle est confirmée la même année par HUBBELING, et ROLAND (1955) établit la présence de la J.A.P. en *Belgique* ; l'année suivante, HUBBELING la signale en *France*. TINSLEY (1957) attribue à la Jaunisse apicale des symptômes connus depuis longtemps par les agriculteurs en *Angleterre*. MEIER *et al.* (1959)

(1) Ces travaux sont menés au C. N. R. A. respectivement par MM. R. COUSIN (Amélioration des Plantes), par H. LAPIERRE (Pathologie végétale) et par l'auteur du présent mémoire.

décrivent l'apparition brusque de la J.A.P. en *Suisse*. En 1960 (*R.A.M.* 40, 73), la première mention est faite de l'existence de la maladie en *Nouvelle-Zélande*. En 1966, TALMACHOVA indique sa présence en *U. R. S. S.*

Ceci ne permet pas d'avancer l'hypothèse d'une éventuelle extension géographique de la maladie au cours des dernières années. En Allemagne, Hollande et Angleterre, en effet, les auteurs se sont aperçus que la maladie avait été connue des cultivateurs (QUANTZ et VOLK, 1954 ; TINSLEY, 1959), parfois sommairement étudiée et alors attribuée à l'intervention du champignon *Fusarium solani* (HUBBELING, 1954).

La J. A. P. est inconnue en Amérique, où les vecteurs existent.

IMPORTANCE ÉCONOMIQUE

La Jaunisse apicale du Pois cause dans certains cas des dégâts considérables, sur pois et sur fèves. On signale (*R. A. M.* 40, 73) le cas d'un champ où toutes les fèves sont attaquées, cependant, la plupart du temps, le pourcentage de plantes atteintes varie de 5 à 60 p. 100. Comme il est dit dans le chapitre « épidémiologie », les plantes malades se trouvent en plus grand nombre à proximité des « réservoirs » de virus et de vecteurs, les cultures de luzerne et de trèfle en général.

HUBBELING (1956) signale que si les symptômes apparaissent tôt dans la saison, la réduction du rendement est plus importante. En effet, une plante inoculée jeune sera plus affectée et pourra servir de point de départ à une extension secondaire de la maladie par les pucerons aptères, au cours de l'été. Ce même auteur indique que l'on peut reconnaître au sein de la parcelle les plantes attaquées les premières ; elles se présentent sous un aspect rabougri, jaune, et sont dépourvues de gousses.

C'est à MEIER *et al.* (1959) que l'on doit la seule étude précise concernant l'évaluation des dégâts de la J.A.P. Trois parcelles des environs de *Pfyn* (*Thurgau, Suisse*) ont fait l'objet de prélèvements — plantes attaquées (A) et plantes apparemment saines (S). En résumé du tableau dressé par les auteurs, il apparaît (à propos des plantes A par rapport aux plantes S) :

— une diminution de 30 p. 100 du nombre de gousses par plante.
— une diminution de 14 p. 100 du poids de 100 gousses ;
— une diminution de 52 p. 100 du poids des graines de 100 plantes ;
— une diminution de 10 p. 100 du poids de 1 000 graines ;
— une diminution de 23 p. 100 du nombre de graines par gousse ;
— le prix des pois au kg est sensiblement égal en moyenne, ou même supérieur, légèrement, dans deux cas sur trois ; ceci est dû à la proportion plus grande chez les plantes A de pois de calibre faible ;
— enfin, la perte de rendement attribuable à la J.A.P., exprimée en termes de prix, qui se situe aux alentours de 50 p. 100 (dans l'hypothèse d'un champ infecté à 100 p. 100).

Dans le cadre de leur étude, MEIER *et al.* ont observé que, très fréquemment, 50 à 60 p. 100 des plantes d'une parcelle sont atteintes, ce qui permet de mesurer l'importance économique que peut revêtir cette maladie.

Sur culture de fèves, nous manquons de données précises, mais il ne fait aucun doute que le chiffre de la perte soit du même ordre de grandeur.

Aucune évaluation n'a été avancée en ce qui concerne la luzerne et le trèfle ; les indications que nous possédons nous permettent de penser que la perte est faible, qu'elle est en tous cas négligée par le praticien.

NOMENCLATURE

Bos, en 1964, donne une liste commentée des différents noms qu'a reçu cette maladie et souligne la confusion qui existe à ce propos.

Pour notre part, nous nous en tiendrons, dans notre texte, à la dénomination « Jaunisse apicale du Pois » (J.A.P.) qui est la plus couramment employée en français.

Nous donnons un tableau des noms employés par les différents auteurs qui ont étudié cette maladie.

1927	Bonning (?)	Blattrollkrankheit der Ackerbohne.
1954	Quantz et Volk	Blattrollkrankheit der Ackerbohne und Erbse ; *Viciavirus chlorogenum*.
		Johanniswelke, Fusskrankheit (1).
1954	Hubbeling	Topvergeling van de erwt.
1955	De Fluiter et Hubbeling	Top yellows of pea.
1955	Roland	Jaunisse du pois, *Pisum virus 8*.
1957	Smith K. M.	Pea tip yellowing.
1957	*R. A. M.* Suppl. 35	Pea leaf roll (virus).
1959	Van Der Want et Bos	Geelnervigheid (2).
1960	Quantz	Legume leaf roll.
1965	Aldrich, Gibbs, Taylor	Bean leaf roll.

Si le terme « Pea leaf roll » — traduction de « Blattroll (krankheit) der Erbse » — a la priorité, la dénomination « top yellows » (topvergeling, Jaunisse apicale) est plus descriptive des symptômes réellement observés sur Pois.

SYMPTÔMES

Pois

Les auteurs s'accordent sur le tableau suivant : une à trois semaines après le repas d'infection par les pucerons, les feuilles de l'apex prennent une teinte jaune (chlorose) généralisée ou limitée aux espaces internervaires, se plient ou s'enroulent ; ces mêmes feuilles demeurent nettement plus petites que la normale et s'épaississent, prenant un aspect alutacé ; leur port est hérissé, ce qui confère à l'ensemble du pois malade un aspect caractéristique ; le nanisme est une constante de l'attaque de la J.A.P. La plante fleurit généralement mais le nombre de fleurs et, par conséquent celui de gousses, se trouve très réduit ; les graines sont un peu plus petites (Meier *et al.*, 1959).

Une ou plusieurs des manifestations ci-dessus indiquées peuvent ne pas apparaître. Les causes de variations observées sont — outre le caractère résistant ou sensible de la variété de Pois considérée — l'âge physiologique de la plante au moment de l'inoculation (Wilson, 1968), et le fait que la plante croisse en serre (le diagnostic de la J.A.P. peut alors être très délicat à établir) ou en plein air (les symptômes sont alors très nets (Quantz et Volk, 1954 ; Tinsley, 1959) ; la quantité d'inoculum ne joue pas de rôle dans la gravité des symptômes (Wilson, 1968).

(1) Noms vernaculaires allemands, se rapportant à l'ensemble des manifestations causées par le « virus » et par les champignons agissant en tant que parasites de faiblesse.

(2) Se réfère aux symptômes observés sur luzerne.

Des études précises font défaut concernant l'influence des divers facteurs climatiques sur la gravité des symptômes.

Fève — Féverolle

Les manifestations de la présence de la J. A. P. sur ces deux plantes voisines sont très semblables à celles observées sur pois : chlorose de la partie supérieure du végétal ; pliure, enroulement, épaississement, érection et aspect alutacé des feuilles, nanisme général ; nombre de fleurs diminué. Les symptômes apparaissent un peu plus lentement que sur Pois.

Une certaine variabilité peut être observée. ROLAND (1956) met en évidence la J.A.P. à partir de deux lots de fèves exprimant — au champ — des symptômes différents : mosaïque, boursoufflure et réduction des limbes dans un cas ; blanchiement du bord des feuilles et des espaces internervaires dans le second cas. TINSLEY (1959) remarque que les fèves, en serre, présentent une jaunisse des nervures, aspect inhabituel pour les plantes malades en plein champ. HUBBELING (1956) décrit une chlorose des espaces internervaires des feuilles de l'apex et signale la présence fréquente sur la plante affaiblie du champignon *Botrythis fabae*, présence qui se traduit par de larges taches concentriques grises. Cette variabilité est notée également par THOTTAPPILLY (1969).

Luzerne

La J.A.P. provoque sur cette plante des symptômes très particuliers, intéressant les feuilles de l'apex ; les plus jeunes d'entre celles-ci manifestent une jaunisse des nervures extrêmement nette mais qui peut disparaître de façon passagère dans les conditions naturelles, pendant l'été (VAN DER WANT et BOS, 1959). Les facteurs responsables de l'extériorisation des symptômes n'ont pas été étudiés. Selon ces mêmes auteurs, plusieurs mois seraient nécessaires entre le repas d'inoculation par les pucerons et l'apparition des symptômes. La J.A.P. ne provoque chez *Medicago* aucune altération de taille.

Trèfle

Les symptômes ressemblent beaucoup à ceux observés sur Pois (HUBBELING, 1956). THOTTAPPILLY résume ainsi ses observations : coloration brunâtre périphérique et érection des feuilles, nanisme de la plante.

THOTTAPPILLY décrit brièvement les manifestations de la J.A.P. sur Sainfoin, Gesse, Mélilot, Fenu grec, où l'on retrouve, avec une grande variabilité spécifique, tout ou partie des symptômes décrits ci-dessus.

Des coupes histologiques effectuées dans les tiges de pois et de fèves atteints de J.A.P. (QUANTZ, 1954 ; QUANTZ et VOLK, 1954) ont mis en évidence une nécrose marquée du phloème, analogue, indiquent ces auteurs, au phénomène observé sur coupes de Pomme de terre enroulée. Cette nécrose est responsable de l'épaississement constaté des feuilles des plantes malades, par suite de l'accumulation au sein de celles-ci de matériaux élaborés.

Des symptômes voisins de ceux dus à la J.A.P. sont le fait du champignon *Fusarium solani*. Celui-ci, du reste, n'occasionne de dégâts sérieux que si la plante est considérablement affaiblie. La nécrose des vaisseaux, l'enroulement et l'épaississement des feuilles sont caractéristiques de la Jaunisse Apicale. Toutefois, la distinction est très souvent délicate, surtout dans les conditions de la serre. On sait que la J.A.P. a été autrefois attribuée à ce champignon.

En annexe à ce mémoire sont rapidement présentées quelques maladies aux symptômes très voisins.

MODE DE TRANSMISSION

En 1926 BONNING suspecte les pucerons d'être vecteurs de la maladie ; ses essais de transmission échouent.

Après une assez longue période pendant laquelle la maladie est connue et rapportée à un

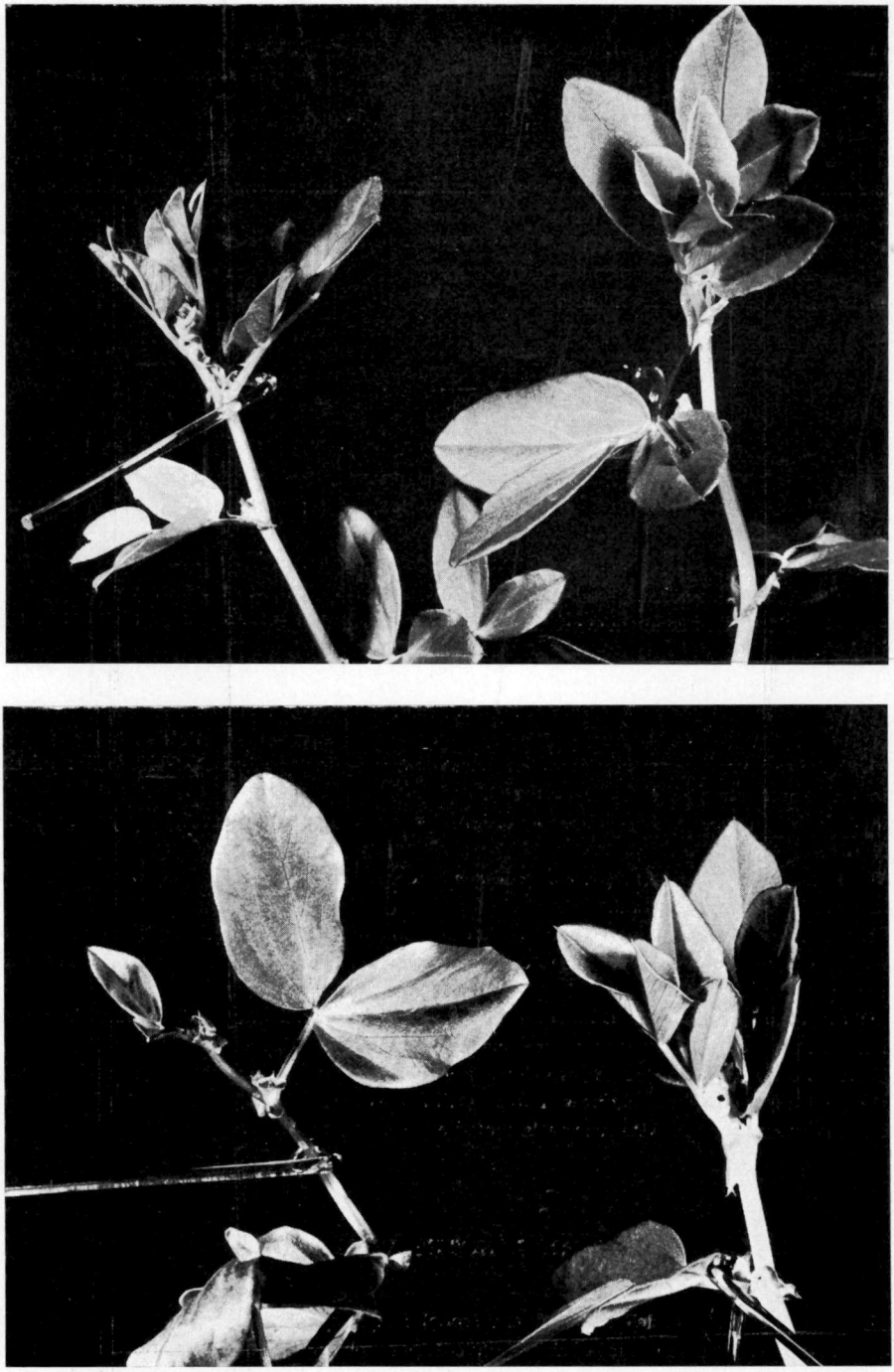


FIG. 1. — *Symptômes de la Jaunisse apicale du Pois sur Fêve*, Vicia faba *L. var.* minor (*aguadulce*).
Les fèves de gauche sur la photo sont atteintes de J.A.P. Noter les deux types différents de symptômes. Les fèves de droite n'ont pas été inoculées, elles sont du même âge que les fèves malades ; leur taille nettement plus grande n'apparaît pas sur la photo.

(Photographies originales de l'auteur)

champignon (*Fusarium solani*), des essais sont menés par QUANTZ (1954) et par HUBBELING (1956) afin de prouver sa nature virale, par des inoculations à des plantes saines de jus de plantes malades. Ces tentatives échouent également.

QUANTZ et VOLK en 1954 publient les premiers essais positifs de transmission par pucerons. DE FLUITER et HUBBELING en 1955, ROLAND la même année, HUBBELING en 1956, confirment leurs résultats, à savoir que la maladie n'est pas transmissible mécaniquement, qu'elle se transmet, quoique difficilement, par pucerons, à condition de ménager pour ceux-ci des durées de repas d'acquisition et de repas d'inoculation longues.

HEINZE en 1959, et très récemment WILSON (1968), ont étudié en détail les modalités de la transmission de la Jaunisse apicale du Pois.

Gamme des vecteurs
(Homoptera, Aphididae)

Acyrtosiphon pisum (HARRIS).....	(QUANTZ et VOLK, 1954 ; DE FLUITER et HUBBELING, 1955 ; HUBBELING, 1956 ; TINSLEY, 1959 ; VAN DER WANT et BOS, 1959 ; HEINZE, 1959 ; THOTTAPPILLY, 1969).
Megoura viciae BUCK.	QUANTZ et VOLK, 1954.
Macrosiphum euphorbiae (THOMAS).	(QUANTZ et VOLK, 1954 ; HUBBELING, 1956).
Myzus persicae (SULZ.)	(QUANTZ et VOLK, 1954 ; ROLAND, 1955 ; TINSLEY, 1959 ; WILSON, 1968).

Mode de la transmission aphidienne

La durée minimum du repas d'acquisition est de une heure pour le puceron *A. pisum* (HEINZE) et de six heures pour *M. persicae* (WILSON).

Quant à la durée du repas d'inoculation, les auteurs s'entendent à la trouver égale à 24 heures.

La latence dans le vecteur (*A. pisum*) est évaluée par HEINZE à 10 heures, période qui représente un minimum, précise-t-il.

L'agent infectieux se conserve au travers de deux mues du puceron (HEINZE) et peut être transmis à des plantes saines par des pucerons maintenus sur une solution de saccharose pendant 8 jours (WILSON).

D'après les données concourantes de ces auteurs, on peut affirmer que l'agent de la Jaunisse apicale du Pois est transmis par les pucerons selon le mode circulant.

Notons encore que le fait de disposer des nombres croissants de pucerons infectieux sur les plantes-test augmente leurs chances d'être atteintes par la maladie, et que, plus la plante est jeune, plus graves sont les attaques de la maladie (WILSON, 1968).

GAMME D'HÔTES VÉGÉTAUX

Un travail très récent de THOTTAPPILLY (1969) établit une liste de 75 espèces et sous-espèces végétales susceptibles d'acquérir la Jaunisse apicale par inoculation de l'agent infectieux au moyen du puceron *A. pisum*. Les 124 espèces testées appartiennent à la famille des Papilionacées.

A partir de ces résultats, nous avons dressé un tableau où ne figurent que les espèces communes ou cultivées (d'après BONNIER). A l'intérieur de chaque genre, nous apportons la distinction entre espèces annuelles et espèces pérennes.

TABLEAU I

XXX très forte « sensibilité » ; XX et X, degrés moindres ; O : « résistance ». Ces indications sont celles de THOTTAPPILLY, déterminées à partir des résultats des tests de transmission (plante-source : Pois ; vecteur : *A. pisum*) ; C plante commune ; CC plante très commune ; * plante cultivée.

Genre *Lathyrus* Plantes annuelles :		
L. annuus L. (Gesse annuelle)	O	C
L. aphaca L. (Gesse Aphaca)	XX	C
L. cicera L. (Gesse chiche)	X	*
L. clymenum L. (Gesse d'Espagne)	X	C
L. nissolia L. (Nissole)	X	C
L. ochrus DC. (Ocre)	XXX	C
L. sativus L. (Gesse)	X	*
Plantes pluriannuelles :		
L. hirsutus L. (Pois gras)	O	C
L. latifolius L. (Grande Gesse)	?	CC
L. montanus BERNH. (Gesse à tiges renflées)	O	CC
L. niger BERNH. (Gesse noire)	O	C
L. odoratus L. (Pois de senteur)	X	*
L. pratensis L. (Gesse des prés)	X	CC
L. silvestris L. (Gesse sauvage)	X	CC
L. tuberosus L. (Gesse tubéreuse)	O	CC
L. vernus BERNH. (Gesse du printemps)	X	C
Genre *Medicago* Plantes pluriannuelles :		
M. lupulina L. (Luzerne lupuline)	O	*
M. sativa L. (Luzerne)	XXX	*
Genre *Onobrychis* Plante pluriannuelle :		
O. viciaefolia SCOP. (Sainfoin)	X	*
Genre *Pisum* Plantes annuelles :		
P. sativum L. (Petit-pois)	XXX	*
P. arvense L. (Pois gris)	XX	*
Genre *Trifolium* Plantes annuelles :		
T. angustifolium L. (Trèfle à feuilles)	O	C
T. campestre SCHREB. (Trèfle des champs)	XXX	CC
T. glomeratum L. (Trèfle aggloméré)	O	C
T. incarnatum L. (Trèfle incarnat)	XXX	*
T. striatum L. (Trèfle strié)	XX	CC
Plantes pluriannuelles :		
T. alpestre L. (Trèfle alpestre)	XX	C
T. arvense L. (Trèfle des champs)	XX	CC
T. fragiferum L. (Trèfle porte-fraise)	O	CC
T. hybridum L. (Trèfle hybride)	O	C
T. medium L. (Trèfle intermédiaire)	XX	CC
T. montanum L. (Trèfle des montagnes)	O	CC
T. ochroleucum HUDS. (Trèfle jaunâtre)	O	CC
T. pratense L. (Trèfle des prés)	X	*
T. repens L. (Trèfle blanc)	X	*
T. rubens L. (Trèfle rougeâtre)	X	C

TABLEAU I *(suite)*

XXX très forte « sensibilité » ; XX et X, degrés moindres ; O : « résistance ». Ces indications sont celles de THOTTAPPILLY, déterminées à partir des résultats des tests de transmission (plante-source : Pois ; vecteur : *A. pisum*) ; C plante commune ; CC plante très commune ; * plante cultivée.

Genre *Vicia* Plantes annuelles :		
V. ervilia WILLD. (Erse)	XX	C
V. faba L. var. *major* (Féverolle)	XXX	*
V. faba L. var. *minor* (Fève)	XXX	*
V. hirsuta S. F. GRAY (Vesce hérissée)	XX	CC
V. hybrida L. (Vesce jaune)	O	C
V. lathyroides ALL. (Fausse-gesse)	XXX	CC
V. lutea L. (Vesce jaune)	XXX	C
V. narbonensis L. (Vesce de Narbonne)	XXX	C
V. pannonica Cr. (Vesce de Hongrie)	XX	C
V. sativa L. (Vesce)	XXX	*
V. tetrasperma SCHREB. (Lentillon)	XX	CC
Plantes pluriannuelles :		
V. cassubica L. (Orobe des bois)	X	C
V. cracca L. (Vesce cracca)	X	CC
V. dumetorum L. (Vesce des buissons)	O	CC
V. onobrychioides L. (Faux-sainfoin)	XXX	C
V. orobus DC. (Orobe)	X	C
V. pisiformis L. (Vesce à feuilles de Pois)	X	C
V. silvatica L. (Vesce des forêts)	X	C
V. villosa ROTH (Vesce velue)	X	C

Les représentants testés des genres *Coronilla, Lotus, Ononis* et *Phaseolus* sont classés comme non sensibles.

Le Trèfle des Prés et le Trèfle blanc n'expriment pratiquement pas de symptômes ; ils acquièrent cependant la maladie, laquelle ne peut être mise en évidence que par la transmission à une plante sensible au moyen du puceron. THOTTAPPILLY emploie à leur sujet le terme d'« infection latente ».

ÉPIDÉMIOLOGIE

Le tableau ci-dessus met en évidence l'existence de nombre de plantes pluriannuelles sensibles — quoique dans une moindre mesure par rapport aux plantes annuelles — à l'attaque de la J.A.P., plantes extrêmement répandues, mêlées aux cultures ou poussant en bordure des champs, réservoirs d'infection potentiels. Les observations réalisées jusqu'à présent ne donnent de l'importance qu'à la luzerne.

HUBBELING en 1955 ; DE FLUITER et HUBBELING la même année, soulignent l'importance des cultures de luzerne dans le maintien pendant l'hiver et l'extension au printemps de la maladie. La constatation a été faite très tôt, que la Jaunisse apicale du Pois se manifeste dans les cultures de pois ou de fève jouxtant des champs de luzerne. Les essais de transmission, les observations aux champs comme au laboratoire indiquent incontestablement que la luzerne est un hôte de la J.A.P., qu'elle peut la conserver pendant de longues périodes sans en pâtir trop, qu'elle en assure l'hibernation (plante pérenne). D'autre part, la luzerne est l'hôte d'hiver du vecteur *A. pisum* dont les ailés transmettent la maladie aux pois au début de l'été et dont les aptères assurent la dissémination à l'intérieur du champ.

TINSLEY (1957) remarque de même que dans les champs de fèves placés auprès de parcelles de luzerne, les dégâts dus à la J.A.P. décroissent au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la luzerne.

Une étude de l'écologie de la maladie ne pourra pas ne pas tenir compte de la présence de ces autres plantes, ne pas tenter d'en évaluer la part de responsabilité dans une épidémie de la maladie. Si, grâce à THOTTAPPILLY, on les sait des récepteurs, on ignore leurs potentialités en tant que « donneurs » et, dans un cas comme dans l'autre, leurs rapports avec les pucerons vecteurs sont à préciser.

Nous ne disposons pas d'étude précise sur l'efficacité des différents vecteurs. Des essais ont été menés en serre — afin de préciser les modalités de la transmission — qui permettent de chiffrer des taux de transmission ; nous ne nous attarderons pas sur les résultats de ceux-ci car ils sont variables et non comparables entre eux. D'après TINSLEY, ce taux qui est de l'ordre de 30 p. 100 en serre passe à 90 p. 100 à l'extérieur pour la même espèce (10 pucerons infectieux par plante-test). Notons que WILSON a obtenu un taux de transmission par *M. persicae* de 100 p. 100 en disposant 25 pucerons par plante-test.

Cependant, il apparaît que *A. pisum*, *Myzus persicae*, et *Macrosiphum euphorbiae* sont les vecteurs les plus efficaces.

Il serait du plus grand intérêt de pouvoir définir une hiérarchie basée sur les taux de transmission entre les différentes associations « plante source-puceron vecteur-plante inoculée », étant précisé pour chaque élément, espèce, biotype, variété, ainsi que les conditions de la transmission.

POSSIBILITÉS DE LUTTE

Jusqu'à présent, il n'existe pas de moyen propre à combattre directement le virus dans les cellules des plantes malades. Pour la Jaunisse apicale, comme pour toutes les maladies de ce type, on aura donc recours à des méthodes préventives : pratiques culturales visant à amener la plante dans un état de maturité et de vigueur suffisant pour souffrir peu de l'attaque de l'agent pathogène, destruction des pucerons vecteurs, semis de variétés possédant des caractères de résistance vis-à-vis de la maladie.

Pratiques culturales

Nous avons déjà rapporté les conclusions de plusieurs auteurs, faisant de la luzerne le lieu d'hibernation de la J.A.P. (agent et vecteur). L'imbrication des parcelles de luzerne et de parcelles de pois ou fèves est très fréquente et favorise grandement les dégâts de la maladie.

HUBBELING (1956) préconise de semer très tôt (nord des *Pays-Bas*) les pois des variétés sensibles à la J.A.P. ; cette pratique est de peu d'effet si les ailés des pucerons vecteurs apparaissent précocement, venant des champs de luzerne avoisinants (sud des *Pays-Bas* et *France*). MEIER *et al.* (1959) constatent que les pucerons sont moins nombreux sur les pois semés tôt — résistance due à l'âge de la plante — ou très tard — action des parasites et prédateurs — ceci étant valable pour les variétés de Pois sensibles et résistantes. Un nombre croissant de pucerons, nous l'avons vu, augmente les chances d'infection de la plante, mais, à côté de ce nombre, un autre facteur — la provenance du puceron — entre en jeu dans la probabilité d'atteinte de la plante par la J.A.P. Il est à signaler que ALDRICH *et al.* (1965) concluent que le degré de maturation des fèves au moment de la présence des pucerons n'influe pas sur leur sensibilité à la Jaunisse apicale.

Enfin, nous citerons WAY (1959), HEATHCOTE et WAY (1960), qui observent qu'une plus grande densité de semis conduit à un pourcentage plus faible de plantes atteintes par unité de surface.

Lutte chimique

Il s'agit de l'application sur les cultures d'insecticides afin de prévenir les pullulations de pucerons, vecteurs de la maladie.

Des expériences ont été tentées par MEIER *et al.* (1959), WAY (1957), HEATHCOTE et GIBBS (1959), MEIER (1962), dont les résultats sont donnés comme satisfaisants. Ceci tient au fait que la durée nécessaire du repas d'acquisition à effectuer par le puceron est suffisamment longue pour que l'insecticide systémique agisse. MEIER (1968) conclut que l'emploi des insecticides systémiques ne se justifie et n'est couronné d'un certain succès que s'il a lieu sur avis des stations d'avertissements, dans le cas d'une forte attaque sur plantes sensibles. Des essais d'enrobage de semences (10 à 40 g de Mezanone M 2871 par kg de graines) sont rapportés par le même auteur ; les plantes sont protégées pendant les premiers stades de leur croissance. L'action de l'une comme de l'autre de ces méthodes de traitement se limite à un endiguement des dégâts de la maladie.

BOS et VAN DER WANT en 1960 précisent les limites de la lutte chimique, dans les conditions existant aux Pays-Bas : les cultures de luzerne sont très proches de celles de pois et alimentent ces dernières en pucerons (dans les conditions du cadre de l'étude de MEIER — en Suisse — ceci n'est pas à redouter). La petite superficie des parcelles rend les traitement coûteux et le peu de dommages causés à la luzerne par la J.A.P. ne justifie pas l'emploi d'insecticides sur celle-ci (aux yeux des agriculteurs).

Lutte génétique

Des tests de résistance ont été effectués sur des variétés existantes de Pois dès 1954 (HUBBELING), qui ont permis d'en dégager un certain nombre possédant le caractère recherché.

Ce même auteur, en 1956, met en place un test de grande envergure qui vise à connaître le degré de sensibilité ou de résistance de près de 300 variétés vis-à-vis de la Jaunisse apicale et du « Fusarium wilt » ; en plus de recommandations pour la conduite de tels tests, il dégage les principes de la politique de sélection à adopter. Le fait que, dans un champ, un nombre considérable de plantes échappe à l'infection rend impossible la sélection pour la résistance sur une population issue de croisement ; la résistance ne peut être testée que par l'établissement de lignées, surtout que l'on peut présumer que la résistance est liée à un ou plusieurs gènes dominants. Beaucoup de variétés présentent, lors d'une infection, des symptômes très peu marqués et le rendement n'est pas atteint ; celles-ci doivent être écartées au profit de variétés n'exprimant pas le moindre symptôme. Ces dernières étant nombreuses, on aura intérêt à choisir les deux parents parmi elles ; tous les descendants d'un tel croisement posséderont le caractère de résistance à la Jaunisse apicale.

D'autres auteurs ont noté les caractères de résistance de variétés de Pois ou de Fève : BANGA (1955); X (1956) ; XX (1960) ; GIBBS *et al.* (1962) et surtout CRAMPTON (1966).

Si, d'après ALDRICH *et al.* (2965), la sensibilité des plantes à la maladie n'est pas liée à leur « colonisabilité » par les pucerons, il serait intéressant de pouvoir distinguer entre leur caractère de résistance au développement des symptômes de la maladie, et leur caractère de résistance à la piqûre et au développement des pucerons.

Toujours est-il qu'avec l'emploi des variétés résistantes, le producteur dispose d'un moyen efficace contre la J.A.P.

CONCLUSION

Plusieurs points méritent d'être soulignés :

La maladie est de découverte relativement récente, et surtout elle constitue de plus en plus une préoccupation majeure pour ceux qui cultivent les légumineuses les plus sensibles (Pois et Fève). La lutte chimique et surtout l'emploi de variétés résistantes sont les armes de ces praticiens. Ces méthodes sont certes à perfectionner, mais la J.A.P. se dissémine à partir de « réservoirs », Papilionacées pérennes cultivées ou non, qui, eux, retiennent trop peu l'attention et suscitent encore moins l'action.

Elle se répand grâce à des populations de pucerons vecteurs dont l'efficacité peut grandement varier. A ce propos, la connaissance précise du vecteur, de son espèce, mais aussi du biotype particulier rencontré ou utilisé dans les expériences, a été négligée par les auteurs. Le cas du puceron du Pois (*A. pisum*) est, dans cette optique, un sujet complexe. Ses différents biotypes — voire ses différentes lignées parthénogénétiques — ont des comportements très différents, vis-à-vis de leurs plantes-hôtes, comme vis-à-vis des virus qu'ils transmettent.

L'agent pathogène, transmis par les pucerons, est d'une nature que l'on suppose virale. Les études sont en cours pour en apporter la confirmation et pour caractériser cet agent.

Les relations entre la J.A.P. et certaines autres maladies (cf. Annexe) sont à préciser. La sérologie devra intervenir.

L'existence de souches différentes de l'agent pathogène est à envisager.

Reçu pour publication en mai 1969.

ANNEXE

Maladies ressemblant à la J. A. P.

Le « Subterranean clover stunt ».

SMITH, en 1966, discute de l'identité de cette maladie, responsable de dégâts notables sur Haricot, avec la J.A.P. Les symptômes produits sur Pois et Fève sont à peu près identiques à ceux dus à la J.A.P. Cet auteur n'a cependant pas obtenu de transmission sur luzerne. Le mode de transmission est identique à celui de la J.A.P. et les vecteurs sont pour la plupart les mêmes. Des tests sérologiques devraient confirmer l'opinion que les deux maladies sont dues au même agent.

La Chlorose apicale du Pois.

Cette maladie a été décrite pour la première fois par MUSIL en 1966 sur Pois, Fève et quelques espèces de *Chenopodium* ; ses symptômes sont très voisins de ceux de la J.A.P. Elle a reçu le nom allemand de « Blattrollen der Erbse » — traduction anglaise : « Pea leaf rolling » —, noms qui diffèrent trop peu de « Blattroll » et « leafroll » (J.A.P.). La Chlorose apicale du Pois se transmet mécaniquement, par la graine, et par quatre espèces de pucerons : *Myzus persicae* SULZ., *Acyrtosiphon pisum* HARRIS, *Aphis fabae* SCOP. et *Aphis craccivora* KOCH., selon le mode virus de stylet. Les travaux de KVICALA (1967) ; KVICALA et MUSIL (1967), ont porté sur l'étude de la transmission aphidienne de cette maladie.

La Fausse-Jaunisse apicale du Pois.

TOTTHAPPILLY et SCHMUTTERER (1968) dénomment « Falsches Blattrollvirus der Erbse » l'agent d'une maladie du Pois dont les symptômes sont ceux, à peu près, de la Jaunisse apicale. Cette maladie, de nature probablement virale, est transmise aussi bien par la graine, ou mécaniquement, ou par les zoospores d'un champignon du genre *Pythium*, ou par le puceron *M. persicae* selon le mode virus de stylet. Elle diffère donc nettement de la J.A.P., moins nettement de la Chlorose apicale, mais des différences de propriétés physiques de l'agent pathogène (température d'inactivation) et de gamme d'hôtes végétaux et de vecteurs font que les auteurs concluent à une maladie distincte.

Le Nanisme de la Fève.

Il s'agit là d'une maladie, « Milk-vetch dwarf », « Yellow dwarf of Pea and Broadbean », sévissant sporadiquement au Japon, étudiée par INOUYE *et al.* en 1968. Les symptômes — nanisme, jaunisse et enroulement des feuilles — se développent sur toutes les plantes sensibles à la J.A.P. ;

la maladie affecte aussi *Datura stramonium*, les Tabacs, et l'Épinard. La transmission mécanique est sans succès. Les pucerons vecteurs de cette maladie (*Aphis craccivora* KOCH., *M. persicae* SULZ., *A. pisum* HARRIS, *M. viciae* BUCK.) la transmettent selon le mode virus circulant.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALDRICH D. T. A., GIBBS A. J., TAYLOR L. R., 1965. The incidence of bean leafroll virus in some varieties of field beans (*Vicia faba* L.). *Pl. Pathol.*, **14**, 11-14.

BANGA O., 1955. International conference on the improvement of vegetables varieties at Wageningen, Netherlands, on August 26 and 27, 1955. *Euphytica*, **5**, 18-32.

BONNIER G., 1910. Papilionacées, *in Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique.* Tome III.

BÖNNING K., 1927. Die Mosaikkrankheit der Ackerbohne (*Vicia faba* L.). Ein Beitrag zu dem Gebiet des Pflanzenkrankh eiten und der Immunität im Pflanzenreich **4**, 43-111.

BOS L., 1964. Tentative liste of viruses reported from naturally infected leguminous plants. *Neth. J. Plant. Pathol.*, **70**, 161-174.

BOS L., VAN DER WANT J. P. H., 1958. Virus-ziekten van Vlinderbloemingen. *Landbouwvoorlichting*, **15**, 10-11, 550-558, 573-587.

BOS L., VAN DER WANT J. P. H., 1960. Legume virus research in the Netherlands with special reference to forage crops. *Proc. Eighth. internation. Grassland Congress*, 207-210.

CRAMPTON M. J., 1966. Disease-resistant Pea varieties. *N. Z. J. agric. Res.*, **9**, 152-156.

DE FLUITER H. J., HUBBELING N., 1955. Waarnemingen over topvergeling bij Erwten. *T. Plantenziek.*, **61**, 165-175.

DEVERGNE J. C., 1960. Viroses des plantes légumières. Les Virus des Pois et des Haricots. *Ann. Soc. Hortic. Fr.*, **6**, 21, 12-18.

GIBBS A. K. J., TAYLOR L. R., ALDRICH D. T. A., 1962. In Report of the Rothamsted Exp. Station for 1961.

HAGEDORN D. J., 1958. Some observations on diseases of *Pisum sativum* in several european countries in 1957. *T. Plantenziekt*, **64**, 263-268.

HAMPTON B. O., 1967. Natural spread of viruses infectious to beans. *Phytopathology*, **57**, 338.

HEATHCOTE G. D., WAY M. J., 1960. In : Report of the Rothamsted Exper. St. for 1959, 97.

HEATHCOTE G. D., GIBBS A. J., 1962. Virus diseases in British Crops of field beans (*V. faba*). *Plant Pathol.*, **11**, 69-73.

HEINZE K., 1959. Übertragungsversuch mit dem Blattrollvirus der Feldbohne *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz.*, **66** (4), 220-221.

HUBBELING N., 1954. Een virus als oorzaak van de zojenaamde « Voltziekte » bij Erwten. *Zaadbelangen*, **14**.

HUBBELING N., 1955. Topvergeling bij Erwten, een virusziekte. *T. Plantenziekt.* **61**, (1), 19-20.

HUBBELING N., 1956. Resistance to top yellows and Fusarium wilt in peas. *Euphytica*, **5**, (1), 71-86.

HULL R., 1962. Some virus diseases of sweet peas in England. *6th internation. hortic. Congr.* Brussels 328-329.

HULL R., 1965. Virus diseases of sweet peas in England. *Plant pathol.*, 14, 4. 150-153.

INOUYE T., INOUYE N., MITSUHATA K., 1968. Yellow dwarf of pea and broadbean caused by milkvetch dwarf virus *Ann. Phytopathol. Soc. Jap., E* **34**, (1), 28-35.

KVICALA B. A., 1967. Difference in the transmission of pea leaf rolling virus by two strains of the pea aphid *A. pisum* HARRIS. *Biologia*, **22** (2), 803-807.

KVICALA B. A., MUSIL M., 1967. Transmission of pea leaf rolling virus by aphid. *Biologia*, **22**, (1), 10-16.

MEIER W., 1962. Ergebnisse weiterer Versuch zur Bekämpfung der Blattrollkrankheit der Erbsen. *Mitt. Schweiz. Landw.*, **10**, (12), 177-185.

MEIER W., 1968. Epidemiologie und Bekämpfung von Erbsenvirosen *Mitt. Schweiz. Landw.*, **16**, (3), 37-50.

MEIER W., BERCES J., BAMERT A., 1959. Die Blattrollkrankheit der Erbsen. *Mitt. Schweiz. Landw.* **7**, (12), 177-184.

MUSIL M., 1966. Über das Vorkommen des Virus des Blattrollens der Erbse in der Slowakei. *Biologia*, **21**, 133-138.

PELET F., 1959. Les maladies à virus des légumineuses. II. Virus qui n'affectent que les légumineuses. *Rev. rom. Agric.*, **15**, (12), 100-102.

QUANZ L., 1954. Pflanzenschutz-Tagung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig in Heidelberg 5-9 Oktober 1953. *Mitt. biol. ZentAnst. Berl.*, **80**, 171-175.

QUANZ L., 1955. Neuere Ergebnisse der Virusforschung bei gemüsehülsenfrüchten. *Lehrg. gärtn. Pflanzenz. Samenb.* Göttingen 21-24 Juni 18-24.

QUANZ L., 1960. Investigations on virus diseases of leguminous forage crops von Germany. *Proc. Eighth internation. Grassland Congr.* 204-207.

QUANZ L., VOLK J., 1954. Die Blattrollkrankheit der Ackerbohne und Erbse, eine neue Viruskrankheit bei Leguminosen. *Nachr Bl. dtsch. PflschDienst* (Braunschweig) Stuttgart, **6**, 177-182.

ROLAND GR., 1955. Note sur un virus attaquant les légumineuses. *Parasitica*, **11**, 66-68.

SMITH H. C., 1966. Three most important virus diseases in crops can now be economically controlled. *N. Z. JI. Agric.* **112**, (3), 9-11.

SMITH P. R., 1966. A disease of french beans (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by subterrean cloves stunt virus. *Aust. J. Agric. Res.*, **17**, 875-883.

STANYULIS YU. P., 1967. Quelques données sur l'identification de viroses des légumineuses en Lithuanie. *Lietuv. Tsr. Mokslu Akad. Darbai*, Ser. C., (1), 3-17.

TALMACHOVA A. A., 1967. Viroses des légumineuses aux environs de Minsk. *Vesti. Akad. Navuk.* B. S. S. R., Ser. biyal. Navuk., **3**, 84-86.

TINSLEY T. W., 1957. In : Report of the Rothamsted Exp. Station for 1956.

TINSLEY T. W., 1959. Pea leafroll, a new virus disease of legumes in England. *Plant Pathol.*, **8**, (1), 17-28.

TOLMACHEVA E. A., 1966. Viroses des légumineuses au Jardin botanique central de l'Académie des Sciences de Biélorussie. *Vestsi Akad. Navuk* . B. S. S. R., Ser. biyal. Navuk. (4), 125-129.

THOTTAPPILLY G., 1969. Zur Kenntnis der Wirtspflanzenkreises beim Blattrollvirus der Erbse. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz.*, **76**, 67-78.

VAN DER WANT J. P. H., BOS L., 1959. Geelnervigheid, een virusziekte van Luzerne *T. Plantenziekt.* **65**, (3), 73-78.

WILSON J., 1968. Studies on the transmission of pea leafroll virus by *Myzus persicae* (SULZ) *N. Z. J. Agric. Res.*, **11**, (3), 607.

X, 1956. Eerste Jaarverslag Proefstation voor de Groenteteelt de volle grond in Nederland, 1954-1955. 55 p.

XX, 1960. *Report of the Department of Scientific and Industrial Research*, N. Z., for the year ended 31, March 1960.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 371.

INFORMATIONS

RÉSUMÉ D'ARTICLE
publié dans les *Annales des Sciences forestières* en 1969

G. DEMOLIN. — Comportement des adultes de *Thaumetopoea pitycampa* SCHIFF. Dispersion spatiale, importance écologique.

Par analyse détaillée des différentes séquences du comportement des adultes de *T. pityocampa* SCHIFF, nous avons pu définir les modalités de la dispersion spatiale de cette espèce dévastatrice.

La dispersion est fonction d'une part des possibilités de déplacement de la femelle (plus de deux kilomètres à la vitesse de 10 à 15 km/heure) et d'autre part de la découverte du végétal hôte par mécanisme stéréotactile (diamètre et structure des aiguilles du pin rencontré par la femelle).

La connaissance de la succession des séquences d'activités nous permettent d'entrevoir plusieurs méthodes d'intervention ou de prognose contre la Processionnaire du pin :

— piégeage lumineux ou sexuel au niveau des mâles;

— techniques culturales adaptées à la prévention, en tenant compte de l'incidence des espèces végétales et du relief sur le comportement de déplacement des femelles.

Ann. Zool. Écol. anim., 1969, **1** (3), 373.

CHRONIQUE DES LIVRES

PIRLOT (P.). — MORPHOLOGIE ÉVOLUTIVE DES CHORDÉS. — Montréal, Presses de l'Université de Montréal, 1969, 1 068 p.

Dans sa préface, M. le Professeur Marcel PRENANT présente comme suit l'ouvrage du Pr. PIROLOT :

« ... Comme exposé d'ensemble sur la morphologie des Vertébrés, nous disposons actuellement des deux ouvrages didactiques publiés sous l'éminente direction de Pierre-P. GRASSÉ : le tome collectif consacré aux problèmes d'anatomie comparée, dans le monumental *Traité de Zoologie*, et les quatre à cinq cents pages que mon collègue Charles DEVILLERS a rédigées dans le *Précis de Zoologie* plus spécialement destiné aux étudiants. Le livre de Paul PIRLOT a sa place naturelle à côté de ce dernier, sur le même rayon de bibliothèque : ils ne feront pas double emploi, mais se compléteront utilement, car ils diffèrent beaucoup.

« Dans son avant-propos, M. PIRLOT insiste sur son intention d'écrire, non pas exactement une anatomie comparée (ou comparative), mais une morphologie évolutive, c'est-à-dire de structurer son plan et son choix pédagogique en fonction de l'évolution des Chordés, et d'étendre occasionnellement son sujet, à partir de l'anatomie qui en reste l'axe essentiel, jusqu'au contact de disciplines aussi éloignées, selon les apparences, que l'écologie, la génétique, la biométrie. Bien entendu, des notions de taxonomie, de paléontologie, d'embryologie, d'histologie, ont ici leurs places normales et classiques, mais sont mises en œuvre avec un soin particulier, dans le plan d'ensemble, pour la mise en relief des faits évolutifs. Enfin, le souci des références à la physiologie comparée est en fond de teint dans tout l'ouvrage, l'auteur ayant bien précisé, par avance, qu'il n'accepte pas une opposition de principe entre organe et fonction, entre morphologie et physiologie, et qu'en ce qui concerne les structures, la « morphologie évolutive » est en droit d'examiner leurs analogies aussi bien que leurs homologies...

« Malgré sa large ouverture biologique ce livre reste un authentique traité d'anatomie comparée, avec toutes les dispositions didactiques requises : illustration abondante (455 figures) et de qualité, bibliographie de plus de 1 000 titres, index et plan détaillé de l'ouvrage et de ses chapitres. Dans chacun de ceux-ci, l'auteur a présenté parallèlement : d'une part, une vue claire et complète des séries morphologiques évolutives établies pour le système considéré et, d'autre part, des informations ou de courts rapports sur des recherches récentes ouvrant de nouvelles perspectives de travail...

« Après une introduction historique et méthodologique, où sont données quelques notions d'ensemble, un chapitre rappelle les caractères généraux et la classification des Chordés. Le suivant traite des premiers stades du développement embryonnaire dans la mesure où ils suffisent à fonder la loi de von Baer, c'est-à-dire en n'envisageant guère que les *Branchiostoma*, les Amphibiens, les Sauropsidés et les Mammifères. Sont évoqués aussi, à ce propos, certains problèmes embryologiques actuels concernant les territoires présomptifs, l'induction, la métamérisation, l'allométrie et les rapports de l'embryologie et de la phylogénie.

« Le troisième chapitre mêle de façon assez heureuse la morphologie des Chordés inférieurs (des tuniciers aux agnathes) et l'organisation fondamentale du système de soutien, avec les notions histologiques nécessaires sur les tissus conjonctifs, le cartilage et l'os. Ainsi est ouverte, pour les trois chapitres suivants, la vaste question du squelette des gnathostomes. Après quoi vient logiquement (chap. 7), comme conclusion partielle, la discussion des aspects les plus modernes de l'évolution paléontologique : il s'agit d'un chapitre assez approfondi pour que l'auteur l'ait fait précéder d'une note spéciale avertissant le lecteur des difficultés qu'il y trouverait.

« Les neuf chapitres suivants, représentant la moitié du volume, sont consacrés, du même point de vue évolutif, à l'étude des grands systèmes (musculaire, digestif, respiratoire, circulatoire, urinaire et génital, nerveux, endocrinien, tégumentaire) classiquement distingués dans les parties molles. Et ce beau livre se termine au chapitre 18, par l'offre aux lecteurs de thèmes majeurs de discussion : on y rappelle les aspects quantitatifs et biométriques de la morphologie, les thèses de base de la théorie synthétique de l'évolution, l'examen critique des contacts entre la morphologie comparative et la physiologie, la génétique, l'écologie, voire la thermodynamique et l'application de son deuxième principe... »

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *sommaire :* résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds les dons...; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponible est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 24 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12,4 photos 9 × 55,6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront une épreuve à corriger.

Envoi du manuscrit : M. Biliotti, Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles, France. On demande deux exemplaires.

Zoologie.

TABLE DES MATIÈRES

A. Panis. — Observations faunistiques et biologiques sur quelques *Pseudococcidae* (*Homoptera, Coccoidea*) vivant dans le midi de la France 211

S. Poitout. — La consanguinité chez les Lépidoptères *Noctuidae*. Mise en évidence de son importance dans la conduite d'élevages en conditions artificielles 245

A. Dalmasso, T. Younes. — Ovogenèse et embryogenèse chez *Xiphinema index* (*Nematoda : Dorylaimida*) 265

C. Vago, J.-M. Quiot. — Recherches sur la composition des milieux pour culture de cellules d'Invertébrés 281

P. H. Robert. — Étude en laboratoire de l'influence du stade larvaire, de la quantité de virus et de la température sur la virose à *Vagoiavirus* de *Melolontha melolontha* L. (Coléopt. *Scarabaeidae*) 289

N. Boemare, Nicole Brès. — Le développement du virus de la Densonucléose au cours de la métamorphose de son hôte, *Galleria mellonella* L. (*Lepidoptera*)..... 309

Claude Sender. — Élevage permanent du Carpocapse des Pommes, *Carpocapsa* (= *Laspeyresia*) *pomonella* L., sur milieu artificiel simplifié 321

Qaiser H. Baqri, M. Shamim Jairajpuri. — Two known and three new species of Nematodes associated with fibrous crops in India (Deux espèces connues et trois espèces nouvelles de Nématodes associées aux cultures de plantes à fibres en Inde) 327

Y. Sinoir. — L'ultrastructure des organes sensoriels des Insectes 339

Mise au point bibliographique

A. Fraval. — La Jaunisse apicale du Pois : connaissances actuelles sur l'écologie de cette maladie transmise par Aphides 357

Informations 371

Chronique des livres 373

CONTENTS

A. Panis. — Faunistical and biological observations on some *Pseudococcidae* living in southern of France 211

S. Poitout. — Inbreeding among *Noctuidae* (*Lepidoptera*). Evidence of its importance in breedings under artificial conditions 245

A. Dalmasso, T. Younes. — Oogenesis and embryogenesis of *Xiphinema index* 265

C. Vago, J.-M. Quiot. — Researches on the composition of media for Invertebrate tissue culture 281

P. H. Robert. — A laboratory study of the effect of the larval stage, the quantity of virus and the temperature on the infection of *Melolontha melolontha* L. (*Coleoptera-Scarabaeidae*) with *Vagoiavirus* 289

N. Boemare, Nicole Brès. — Development of Densonucleosis virus during the metamorphosis of its host, *Galleria mellonella* L. (*Lepidoptera*) 309

Claude Sender. — Continuous rearing of the codling moth, *Carpocapsa* (= *Laspeyresia*) *pomonella* L., on a simple artificial diet 321

Qaiser H. Baqri, M. Shamim Jairajpuri. — Two known and three new species of Nematodes associated with fibrous crops in India 327

Y. Sinoir. — The ultrastructure of the Insects'sensorial organs..... 339

Bibliographical review

A. Fraval. — Pea leaf roll : present state of the study on the ecology of this disease transmitted by Aphids 357

Informations 371

Book review 373

I. N. 8. 036 021. 5

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

ANNALES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1969	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 nos par an	125 F	135 F	25 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOLOGIE-ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE, 4 nos par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 nos par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F

PUBLICATIONS NON PÉRIODIQUES

Prix T.T.C.

Recherches d'économie et de sociologie rurales :

Le n° 1 ..... **11,20 F**

Souscription pour les 4 premiers numéros : ..... **35,00 F**

Recherches vétérinaires :

Le n° 1 ..... **22,30 F**

Recherches d'hydrobiologie continentale :

Le n° 1 ..... **16,75 F**

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Les techniques de mycologie en pathologie végétale, par **F. Rapilly**

107 p., 1968 ..... **15,00 F**

Applications de l'électricité à la biologie et à l'aménagement des pêches continentales, publié sous la direction de **R. Vibert.**

276 p., 1968 ..... **35,00 F**

Les leucoses animales, par **C. Lombard.**

215 p., 1968 ..... **27,90 F**

Fermentations et vinifications. IIe symposium international d'œnologie tenu à Bordeaux-Cognac, les 13-17 juin 1967.

656 p., 2 volumes, 1968 ..... **68,00 F**

Bases et techniques d'une cartographie des sols, par **M. Jamagne.**

142 p. (dont 3 cartes des sols sous pochette annexe), 1967 ..... **45,00 F**

Xe Congrès européen sur les groupes sanguins et le polymorphisme biochimique des animaux.

544 p., 1967 ..... **55,90 F**

Atlas stéréotaxique du cerveau de brebis *Préalpes du Sud*, **par P. Richard**

76 p. (dont 26 planches en phototypie), 1967 ..... **55,90 F**

Carte pédologique de la France à l'échelle du millionième et notice explicative, par **J. Dupuis.**

56 p., 1967 ..... **61,50 F**

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78 - Versailles.
Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.
A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean-Nicot, 7e.